

Interspezifische Inkompatibilitäten zwischen Arten der Gattung Hydra (Hydrozoa, Cnidaria)

INAUGURAL - DISSERTATION

Zur Erlangung der Philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT II
der
UNIVERSITÄT ZÜRICH

von
ROBERT STIDWILL
von Gächlingen (SH)

Begutachtet von
Herrn Prof. Dr. P. Tardent

ADAG Administration & Druck AG

Zürich 1981

Interspezifische Inkompatibilitäten zwischen Arten der Gattung Hydra (Hydrozoa, Cnidaria)

INAUGURAL - DISSERTATION

Zur Erlangung der Philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT II
der
UNIVERSITÄT ZÜRICH

von
ROBERT STIDWILL
von Gächlingen (SH)

Begutachtet von
Herrn Prof. Dr. P. Tardent

ADAG Administration & Druck AG

Zürich 1981



Digitized by the Internet Archive
in 2026



Allen, die mir in irgendeiner Weise beim Zustandekommen dieser Arbeit behilflich waren, möchte ich hiermit herzlich danken. Ganz besonderen Dank gebührt Herrn Prof. Dr. P. Tardent für die Anregung und verständnisvolle Leitung. Dr. Thomas Honegger danke ich für viele wertvolle Hinweise und Ratschläge während der praktischen Arbeit und für seine kritische Durchsicht des Manuskriptes. Eine grosse Hilfe waren mir die fruchtbaren Diskussionen mit Dr. L. Littlefield und Dr. B. Marcum.

Diese Arbeit wurde mit der Unterstützung des "Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung" (Gesuch Nr. 3.317-078) durchgeführt.

INHALTSVERZEICHNIS

1.0.0.	E I N L E I T U N G	1
2.0.0.	M A T E R I A L U N D M E T H O D E N	4
2.1.0.	M A T E R I A L	4
2.2.0.	M E T H O D E N	5
2.2.1.	Transplantation	5
2.2.2.	Dissoziation	5
2.2.3.	Histologie	6
2.2.4.	Mazeration	7
2.2.5.	Zellmarkierung	7
3.0.0.	R E S U L T A T E	10
3.1.0.	XENOPLASTISCHE TRANSPLANTATIONSSCHIMÄREN	10
3.1.1.	Dauerparabiose	10
3.1.2.	Regenerationsleistungen von Exparabionten nach zeitlich beschränkten Parabiosen zwischen <u>att</u> und <u>fu</u>	15
3.1.3.	Wiederholte Transplantation von Parabiosepartnern nach künstlicher Trennung	19
3.1.4.	Austausch von Zellen zwischen Parabiosepartnern in Artchimären	21
3.1.5.	Histologische Untersuchung von Artchimären	26
3.2.0.	INTER- UND INTRASPEZIFISCHE ZELLAGGREGATE	30
3.2.1.	Die Entwicklung homospezifischer Aggregate	31
3.2.2.	Die Entwicklung heterospezifischer Mischaggregate der Arten <u>att</u> und <u>fu</u>	31
3.2.3.	Zelldynamik in heterospezifischen Aggregaten in den ersten 48 Stunden nach der Reaggregation	33
4.0.0.	D I S K U S S I O N	38
5.0.0.	Z U S A M M E N F A S S U N G	46
6.0.0.	L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S	48
7.0.0.	F I G U R E N U N D T A B E L L E N	55

1.0.0. E I N L E I T U N G

Die zu den Hydrozoa (Cnidaria) gehörenden Vertreter der Gattung Hydra werden ihres relativ einfachen Metazoenbauplanes, der überschaubaren Zahl verschiedenartiger Zelltypen (David, 1973) und ihrer sich in einem fast unbegrenzten Regenerationsvermögen äussernden morphogenetischen Plastizität wegen in vermehrtem Mass für die experimentelle Bearbeitung entwicklungsbiologischer Fragen herangezogen (Lentz, 1966; Burnett, 1973; Lenhoff, Muscatine und Davis, 1971; Tardent, 1977). Der Einsatz von Mutanten (Sugiyama und Fujisawa, 1977, 1978) als Werkzeug für die Untersuchung von zell- und entwicklungsbiologischen Problemen, sowie die Entdeckung, dass rein epitheliale Polypen nur mit einem Teil des normalen Zellbestandes zu morphogenetischen Leistungen befähigt sind (Campbell, 1976; Marcum und Campbell, 1978), haben in letzter Zeit das methodische Instrumentarium wesentlich bereichert.

Für die Untersuchung von Fragen, welche u.a. in Zusammenhang stehen mit der Histodynamik (Tardent und Morgenthaler, 1966), der Determination (Yaross und Bode, 1978) und der Differenzierung (David und Gierer, 1974) von Zellen, sowie der morphodynamischen Musterbildung (Hicklin und Wolpert, 1973), wird sehr oft die Methode der Transplantation herangezogen, die erstmals vom Genfer Naturforscher Abraham Trembley in seiner vorbildlichen Monographie über Hydra (1744) angewendet und beschrieben worden war.

Die zahlreichen Transplantationsversuche, die in der Folge z.B. zur Analyse der Zellmotilität (Herlands und Bode, 1974), der Induktionswirkung von Teilen von Polypen (Shostak, 1977; Mulherkar und Therwath, 1978), oder im Hinblick auf ein besseres Verständnis der für die Geschlechtsbestimmung verantwortlichen Mechanismen

(Tardent, 1968) gemacht wurden, zeigen, dass es innerhalb der verschiedenen Arten von Hydra grundsätzlich keine intraspezifische Unverträglichkeiten gibt, d.h., dass Teile verschiedener Individuen der gleichen Art miteinander in Parabiose versetzt werden können, ohne dass es dabei zu Inkompatibilitätsreaktionen zwischen den Transplantationspartnern kommt. Bei anderen Vertretern der Hydrozoa gibt es eine solche intraspezifische Verträglichkeit nicht (Ivker, 1972; Hauenschild, 1954, 1955; Toth, 1967; Bühner und Tardent, 1980).

Inkompatibilitäten stellen sich bei Hydra erst dann ein, wenn Gewebe verschiedener Arten miteinander parabiologisch konfrontiert werden. Das Spektrum solcher Unverträglichkeitsreaktionen, welche das Vorhandensein entsprechender interzellulärer Erkennungsmechanismen vermuten lassen, reicht von einer Abstoßung der vereinigten Partner bis zu einer, aus dem zwischenartlichen Kontakt resultierenden, drastischen Herabsetzung der Vitalität der Exparabionten (Artmann, 1969). Da derartige Interaktionen weder bei Hydra (Kolenkine, 1967), noch bei anderen bisher untersuchten Cnidaria (Phillips, 1963) auf einem Vorhandensein eines klassischen Immunsystems zu beruhen scheinen, stellt sich auf dieser noch ursprünglichen Stufe der Metazoen evolution die Frage nach der Art der zwischenartlich wirksamen Erkennungsmechanismen und der Natur der sich daraus ergebenden Reaktionen.

Der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit liegt in einer experimentellen Analyse dieser Reaktionen, die zwischen Exponenten der vier zur Verfügung stehenden Arten, Hydra attenuata, H. fusca, H. carnea und H. viridis, auftreten. Dabei wurden zwei methodisch grundsätzlich verschiedene Wege beschritten. Dem ersten liegt die inter- bzw. intraspezifische Transplantation komplementärer Polypenfragmente zugrunde, durch die in ihrer zellulären Architektur intakt gebliebene Teile der gleichen Art

(Kontrollen) oder zweier verschiedener Arten miteinander in Parabiose versetzt wurden. In dieser Ausgangssituation beschränkten sich die direkten Kontakte zwischen den Partnern auf die Verwachsungsstelle, ohne dass diese Situation eine besondere morphogenetische Leistung der so hergestellten Chimären erfordert hätte. Die Ausgangslage ermöglichte jedoch zwischen den Partnern einen einseitigen oder reziproken Austausch von Wanderzellen (interstitielle Zellen, Nematocyten) über die Verwachsungsgrenze hinweg, sodass im einen wie im andern Teil spontane, in ihrem Ausmass jedoch nicht steuerbare, zwischenartliche Zellgemische entstehen konnten. Diese histodynamischen Phänomene sowie die Vitalität und morphogenetischen Leistungen von Exparabionten wurden untersucht.

In einem zweiten Verfahren wurde auf die Integrität der gegenübergestellten Tiere absichtlich verzichtet, um eine noch intensivere heterospezifische Konfrontation von Zellen herbeizuführen. Zu diesem Zweck wurden die Polypen durch Dissoziation (Gierer et al., 1972) in Einzelzellen zerlegt, um anschliessend zwischenartliche Reaggregate herzustellen. Diese Methode ist mit Erfolg bei Schwämmen (Galtsoff, 1925; Humphreys, 1963; Van de Vyver, 1975), bei Echinodermen (Giudice und Mutolo, 1970; Spiegel und Spiegel, 1975), bei Amphibien (Townes und Holtfreter, 1955; Boucaut, 1974), bei Vögeln und Säugern (Moscona, 1957) bereits angewendet worden. Gegenüber der durch Transplantation herbeigeführten Parabiose schafft sie eine chaotische Ausgangslage, in der praktisch jede Zelle individuell mit benachbarten Kontrahenten der gleichen oder der anderen Art konfrontiert wird, und aus der die normale Polypenarchitektur nur auf dem Weg eines komplexen Rekonstruktions- und Regenerationsgeschehens wieder erreicht werden kann. In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, ob bzw. in welchem Ausmass und mit welchem Erfolg die von 2 Arten stammenden Einzelzellen dabei kollaborieren, oder ob sie sich durch eine frühzeitige, arttypische Segregation einer derartigen Zusammenarbeit entziehen.

2.0.0. MATERIAL UND METHODEN

2.1.0. MATERIAL

Für die Untersuchungen wurden Süßwasserpolyphen (Hydridae) der Arten Hydra attenuata Pallas, H. fusca L. (Syn.: Pelmatohydra oligactis Schulze), H. viridis L. (Syn.: Chlorohydra viridissima (Pallas)) und H. carnea L. Agassiz herangezogen (systematische Einteilung nach Ewer, 1948). Der verwendete H. attenuata-Klon 201 wird seit Jahren am Zoologischen Institut gezüchtet, der H. fusca-Klon Q 627 stellt die vegetative Nachkommenschaft eines 1978 im Zürichsee gefundenen Tieres dar. Klon 1 von H. viridis lässt sich auf Tiere zurückführen, die 1979 im Schulteich der Kantonsschule Rämibühl (Zürich) gesammelt worden waren und Klon ♂ 5 von H. carnea wurde 1978 von der University of California in Irvine bezogen.

Alle Tiere wurden in künstlichem Medium (Loomis und Lenhoff, 1956) bei einem zwölfstündigen Hell-Dunkelrhythmus in einem 18°C-Raum gezüchtet. Die Kulturen wurden in Abständen von 2 Tagen mit Nauplii von Artemia salina gefüttert und jeweils 3 bis 4 Stunden danach in frisches Zuchtwasser überführt.

Ausgewählte Versuchstiere sowie Aggregate wurden einzeln in Halbrundschalen (Inhalt 15 ml) bei 18°C gehalten und wie die Massenkulturen ernährt. Ihr Zustand wurde während der ganzen Dauer der Experimente täglich protokolliert.

2.2.0. METHODEN

2.2.1. Transplantation

Die Herstellung von hetero- und xenoplastischen Chimären erfolgte nach der von Tardent (1966b) beschriebenen Methode: Die beiden zu vereinigenden Parabiosepartner wurden über einem Paraffinbett mit Hilfe eines Mikroskalpelles quer zur Körperlängsachse in eine distale und eine proximale Hälfte zerlegt. Die Fragmente wurden dann, unter Wahrung ihrer ursprünglichen Polarität, in reziproker Kombination auf einer Glaskapillare aufgereiht und, zur Verhinderung eines postoperativen Auseinanderweichens, mit Hilfe aufgeweichter Gelatineplättchen aneinandergedrückt. Die Parabiosepartner waren in der Regel nach 1 bis 2 Stunden so gut miteinander verwachsen, dass sie von den Glasstäbchen geschoben werden konnten. Die Versuchsanordnung ist in Figur 1 dargestellt.

Als Ausgangsmaterial zur Herstellung derartiger Chimären wurden aus den Zuchten Polypen ausgewählt, die weder Knospen noch Gonaden aufwiesen. Sie wurden 48 Stunden vor der Operation zum letzten Mal gefüttert.

2.2.2. Dissoziation

Das Zerlegen von lebenden Polypen in Einzelzellen und die darauffolgende Reaggregation der Zellen erfolgte nach dem von Gierer et al. (1972) beschriebenen Verfahren. Da Tentakelkranz und Fußscheibe sich nicht dissoziieren lassen, wurden diese Körperteile unmittelbar vor der Ueberführung der Tiere in die Dissoziationslösung amputiert, sodass das Ausgangsmaterial für die Aggregate lediglich aus Zellen der Rumpfsäule bestand. Für diese Dissoziationsexperimente wurden auch knospentragende Tiere verwendet, denen mindestens 24 Stunden vor Versuchsbeginn jede Nahrung entzogen wurde. Für die mechanische Dissoziation wurden

silikonisierte Pasteurpipetten verwendet, um den Verlust von Zellen, welche die Tendenz zeigen, an unbehandeltem Glas festzukleben, möglichst auszuschalten. Zur Ermittlung der so verarbeiteten Zellmengen wurden die Dichten der Zellsuspensionen in einer Bürker-Zählkammer bestimmt, wobei gleichzeitig der Dissoziationserfolg stichprobenweise überprüft werden konnte. Im Falle von zwischenartlichen Mischaggregaten wurde gemäss den für jede Art ermittelten Zelldichten mit geeichten, silikonisierten Mikropipetten je eine Probe bekannten Volumens der Zellsuspension entnommen, in Zentrifugenröhrchen aus Polyäthylen überführt, und nach gründlicher Durchmischung mit einer silikonisierten Pasteurpipette zentrifugiert (200 g, 1 min.). Als optimale Zellzahl bezüglich der Regenerationsfähigkeit der Aggregate waren $4-6 \times 10^5$ Zellen pro Aggregat ermittelt worden. Nach der Zentrifugation wurden die Polyäthylenröhrchen waagrecht hingelegt. In der Folge lösten sich die Aggregate nach 30 bis 60 Minuten vom Boden der Röhrchen und konnten diesen entnommen und in Halbrundschalen überführt werden.

2.2.3. Histologie

Für die histologische Analyse von Transplantationschimären (2.2.1.) und von Aggregaten (2.2.2.) wurden die Objekte in modifizierter "M-Solution" (Lenhoff und Brown, 1970) mit 2,5% Glutaraldehyd bei Zimmertemperatur während 2,5 Stunden fixiert. Im Fall der Transplantationschimären erwies sich eine der Fixation vorangehende Anaesthesierung der Objekte in Nembutal (Abbott AG, Zug) zur Verhinderung einer störenden Kontraktion als vorteilhaft (Wood, 1979). Nach zweimaligem Auswaschen in "M-Solution" und erfolgter Entwässerung (Acetonreihe) wurden die Objekte in Epoxyharz ERL-4206 (Spurr, 1969) eingebettet. Die mit einem Reichert-Jung Ultracut-Mikrotom hergestellten Semidünnschnitte (ca. $0,5 \mu\text{m}$) wurden entweder für eine autoradiographische Verarbeitung vorbereitet oder zwecks einer mikroskopischen Analyse mit Toluidinblau gefärbt.

2.2.4. Mazeration

Im Hinblick auf eine Ueberprüfung der zwischen den Partnern von Transplantationschimären stattfindenden Zellaustausche wurden distale, unmarkierte Teile nach Parabiosen von 1, 2, 3, 4 oder 5 Tagen von ihren proximalen, radioaktiv markierten Partnern (siehe 2.2.5.) mittels eines Mikroskalpelles wieder voneinander getrennt. Um sicher zu gehen, dass die Isolate, abgesehen von den Wanderzellen, nur arteigenes Gewebe enthielten, wurden jeweils die in unmittelbarer Nachbarschaft der Verwachsungsgrenze befindlichen Epithelzellen des Ento- und Ektoderms weggeschnitten und nicht weiterverwendet (Figur 2 zeigt eine schematische Darstellung dieses Vorgehens). Die distalen Parabiosepartner wurden dann nach den Angaben von David (1973) mazeriert, d.h. in Einzelzellen zerlegt. Dies geschah direkt auf gelatinisierten Objektträgern, um einen durch Manipulation bedingten Verlust von Zellen zu vermeiden. Obwohl die Tentakelgewebe im Vergleich zu Zellen des Rumpfes sich schlecht mazerieren lassen, sodass meist noch grössere Zellklumpen erhalten blieben, war eine Auswertung der Präparate möglich. Nach erfolgter Mazeration wurden die Objekte für die Autoradiographie vorbereitet.

2.2.5. Zellmarkierungen

Zur Beobachtung der Zelldynamik in xenoplastischen Transplantationschimären, wie auch in heterospezifischen Mischaggregaten, wurden die Zellen des einen Partners entweder mit radioaktiven Nukleotiden oder mit Fluorochromen markiert, um anschliessend im nicht markierten Teil nachgewiesen werden zu können.

Radioaktive Markierung und Autoradiographie : Für die radioaktive Markierung der Kerne wurde Methyl-³H-Thymidin (Radiochemical Centre Amersham England, spezifische Aktivität 18,2 ci/mmol) verwendet, das den Polypen in einer Verdünnung von 1:19 (Zuchtwasser) nach Campbell (1965) mit einer feinen Glasnadel durch die Mund-

Öffnung in den Gastralraum injiziert wurde. Für eine optimale Inkorporation des markierten Nukleotids durch die epithelialen Zellen wurde, aufgrund des von David und Campbell (1972) ermittelten Verlaufs der Zellzyklen, während 72 Stunden in Intervallen von je 8 Stunden injiziert. Bei der Markierung der interstitiellen Zellen genügte gemäss deren Mitosezyklus (Campbell und David, 1974) eine sich über 40 Stunden hinziehende Verabreichung des Markers in Abständen von je 8 Stunden. Unmittelbar vor jeder Injektion wurden die Versuchstiere mit kleinen Mengen von Artemia salina Nauplii gefüttert. Einerseits bewirkt diese Massnahme eine Steigerung der Mitoseaktivität (Otto und Campbell, 1977) und damit eine verbesserte Inkorporationsrate des radioaktiven Prekursors, andererseits halten die Versuchstiere, infolge der Anwesenheit des Futters im Gastralraum, die Mundöffnung über längere Zeit verschlossen, was ein frühzeitiges Entweichen des ^3H -Thymidins durch die Körperöffnung verhindert. Frühestens 24 Stunden nach der letzten Injektion wurden die Versuchstiere für Transplantationen (siehe 2.2.1.) oder für Dissoziations- und Reaggregationsexperimente (2.2.2.) weiterverwendet.

Die Schnitte und Mazerationspräparate (2.2.4.) wurden nach dem Dipping-Verfahren mit photographischer Emulsion (Kodak Nuclear Track Emulsion Type NTB 3) beschichtet. Nach einer Expositionszeit von 4 bis 5 Tagen bei 4°C wurden die Präparate in Kodak D-19 entwickelt (Verdünnung 1:1 in Aqua dest., während 4 Min.) und in Agfa Agefix fixiert (Verdünnung 1:7 in Aqua dest., während 5 Min.).

Die entwickelten Schnitte wurden anschliessend mit Toluidinblau gefärbt, während die Mazerationspräparate mit Phasenkontrastoptik analysiert wurden.

Fluorochromierung : Für die Markierung der Zellen mit Fluoreszenzfarbstoffen wurden Hydren mit DAPI oder mit RITC und

FITC gefärbt. Das 4',6-Diamidino-2-phenylindol-2HCl (DAPI, Serva) wurde in einer Konzentration von 0,05 µg/ml angewendet.

Fluorescein-Isothiocyanat (FITC, Sigma) und Rhodamine B-Isothiocyanat (RITC, Sigma) wurden beide zuerst in Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst (1 mg/160 µl) und dann in einer Verdünnung von 5 µl/1,5 ml Zuchtwasser für FITC und 3 µl/1,5 ml Zuchtwasser für RITC verwendet. Die Polypen wurden jeweils eine Stunde in der Färbelösung belassen und anschliessend mehrmals mit Zuchtwasser gewaschen. Die Fluorochromierung erfolgte immer mindestens 24 Stunden vor der Weiterverarbeitung der Tiere.

Die Fluoreszenz wurde mit einem ZEISS Photomikroskop III FL beobachtet, das mit dem Fluoreszenz-Auflichtkondensor III RS und mit einer Quecksilber-Höchstdrucklampe HBO 50 W ausgerüstet war. Folgende Filterkombinationen fanden Verwendung :

Fluorochrom	Erregerfilter	Farbteiler	Sperrfilter
DAPI	BP 365	FT 395	LP 395
FITC	BP 450-490	FT 510	LP 520-560
RITC	BP 546	FT 580	LP 590

3.0.0. R E S U L T A T E

Die xenoplastischen Konfrontationen wurden zwischen Hydra attenuata (att) einerseits und den drei Arten Hydra fusca (fu), Hydra viridis (vir) und Hydra carnea (car) andererseits durchgeführt. Die in Klammern gesetzten Abkürzungen werden im Sinne einer Vereinfachung von nun an zur Kennzeichnung der Arten verwendet. Das Hauptgewicht der Untersuchungen wurde auf die Artkombination att-fu gelegt, welche sich durch eine grosse Variabilität der Ergebnisse auszeichnete. Nach Möglichkeit wurden deshalb Untersuchungen der Kombinationen att-vir und att-car zur Ueberprüfung und Ergänzung der Hauptexperimente beigezogen.

3.1.0. XENOPLASTISCHE TRANSPLANTATIONSCHIMÄREN

Bei der Herstellung von Artchimären wurde nach der in 2.2.1. beschriebenen Methode vorgegangen (Figur 1). Gleichzeitig wurden in analoger Anordnung heteroplastische Kombinate (att-att und fu-fu) als Kontrollen angefertigt. Die xenoplastischen Parabiosepartner wurden bis zum Zeitpunkt ihrer spontanen Trennung oder, falls es sich um stabile Chimären handelte, während 4 Wochen überwacht und protokolliert, wobei die Haltung der Versuchstiere nach den in 2.1.0. gemachten Angaben erfolgte.

3.1.1. Dauerparabiose

Kombination att-fu : In dieser Versuchsserie, die aus 12 zu verschiedenen Zeiten durchgeführten Einzelexperimenten zusammengesetzt ist, wurden insgesamt 310 xenoplastische att-fu-Chimären hergestellt (Figur 1). Bei 150 dieser Kombinate stand att in distaler, bei 160 in proximaler Position. Ausserdem wurden als

Kontrollen heteroplastische att-att (n = 55) und fu-fu (n = 48) Kombinate erzeugt. Sämtliche dieser Chimären bzw. innerartlichen Kombinate wurden entweder bis zu ihrer spontan erfolgten Trennung oder, bei stabilen Kombinationen, während 30 Tagen auf ihren Zustand und ihr Verhalten hin untersucht.

Die heteroplastischen Kontrollchimären der beiden Arten (att-att; fu-fu) verheilten nach erfolgter Transplantation innerhalb von 30 Minuten und die Verwachsungsnaht war bereits nach 3 bis 4 Stunden nicht mehr sichtbar. Alle diese Kontrollen integrierten sich in der Folge zu normalen Polypenindividuen, bei denen zwischen den von verschiedenen Tieren der gleichen Art stammenden und parabiotisch vereinigten Fragmenten keine Unverträglichkeitsreaktionen auftraten.

Im Falle der Artchimären (att-fu) blieb, im Gegensatz zu den Kontrollen, die Verwachsungsnaht während der ganzen Versuchsdauer sichtbar (Figuren 3-5). Die Verwachsungsgrenze trat dabei im pigmentlosen Ektoderm als Einschnürung, im Entoderm dagegen als deutliche Grenze unterschiedlicher Pigmentierung in Erscheinung. Das Entoderm von att enthält rötliche, jenes von fu gelbliche Carotinoide (Frigg, 1970).

Im Verlauf der Parabiose verschoben sich die Verwachsungsgrenzen im Ektoderm und im Entoderm mit ungleicher Geschwindigkeit proximalwärts. Diese Verschiebung war nach 2 Wochen Parabiosedauer besonders deutlich. Unabhängig von der räumlichen Konstellation, in der die beiden Arten zueinander standen, d.h. ungeachtet dessen, ob sich att in distaler oder proximaler Position befand, war dabei an dieser ringförmigen Stelle stets das Ektoderm von att vom Entoderm von fu unterlagert. Am Ende der Beobachtungszeit (30 Tage) hatte sich die Verwachsungsnaht jener Chimären, die sich nicht spontan getrennt hatten, bis tief in den Stielbereich verlagert.

Das Schicksal dieser att-fu-Chimären war durch einen hohen Grad an Variabilität bezüglich ihres Verhaltens gekennzeichnet. Im Gegensatz zu den heteroplastischen Kontrollen (siehe oben) kam es innerhalb der 30-tägigen Beobachtungsperiode bei 38% der Chimären mit att in distaler Position und bei 39,4% mit fu in distaler Position zu einer spontanen Trennung der beiden Parabiosepartner. Tabelle 1 gibt an, zu welchem postoperativen Zeitpunkt diese Trennungen der Chimärenanteile erfolgten, wobei klar ersichtlich ist, dass diese in beiden reziproken Pfropfkombinationen mit ungefähr gleicher Häufigkeit auftraten. Das bedeutet, dass es keine Rolle spielte, in welcher Axialposition sich die eine oder andere Art in der Chimäre befand. Die Artchimären trennten sich in der von Artmann (1969) und Mercolli (1976) beschriebenen Weise, d.h. entweder durch ein langsames Abschnüren an der Verwachsungsnaht, wobei die Exparabionten nach der Trennung die fehlenden Teile regenerierten; oder aber, indem beim proximalen Partner noch während der Parabiose die Tentakelregeneration einsetzte und es in der Folge, ebenfalls durch Einschnürung an der Grenze der artfremden Gewebe, zur Trennung der Parabiosepartner kam. In wenigen Fällen erfolgte eine Trennung der Parabiosepartner während der ersten 24 Stunden. Da sich diese Fälle auf experimentelle Ungeschicklichkeiten während der Transplantation zurückzuführen liessen, wurden die so früh getrennten Chimärenhälften nicht mehr weiter berücksichtigt.

Neben diesen drastischen Manifestationen interspezifischer Unverträglichkeit wurden bei intakten att-fu-Artchimären noch andere Symptome beobachtet, welche in Form von sich äusserlich manifestierenden Depressionen von unterschiedlicher Stärke in Erscheinung traten. In ihrer leichtesten Form äusserte sich die Depression in einer Verkürzung der Tentakel (Figur 4), diese Reaktion wird in der Folge als D_1 bezeichnet werden. Als stärkere Reaktion D_2 war der vollständige Zerfall der Tentakelgewebe zu werten (Figur 5). Während D_2 und vor allem D_1 vorüber-

gehende, also reversible Symptome darstellten, erholten sich die betroffenen Parabiosepartner nie vom Depressionszustand D_3 (d_3 für proximale Partner), bei dem sämtliche Gewebe der einen Chimärenhälfte allmählich desintegrierten. Individuen im Stadium D_3 hatten zuvor stets die Stadien D_1 und D_2 durchlaufen. Während die milden Depressionsformen D_1 und D_2 , sowohl bezüglich des Zeitpunktes ihres Auftretens, wie auch hinsichtlich ihrer Dauer, variabel waren, trat D_3 (bzw. d_3) in der Regel 12 bis 15 Tage nach erfolgter Transplantation auf und führte im Laufe von weiteren 4 bis 7 Tagen zum Tode des betroffenen Parabiosepartners. In den Depressionszustand D_3 (bzw. d_3) wurde immer nur einer der beiden Parabiosepartner versetzt. Aus der Tabelle 2, welche die zahlenmässige Verteilung der verschiedenen Depressionserscheinungen wiedergibt, ist ersichtlich, dass sowohl att wie auch fu derartigen Depressionen unterworfen waren. In allen Kategorien war jedoch der Anteil der befallenen fu-Teile grösser. Die heteroplastischen Kontrollchimären zeigten nie vergleichbare Depressionssymptome.

Ausser jenen Parabiosepartnern, die sich im Depressionszustand D_3 (bzw. d_3) von ihrem Partner trennten, regenerierten alle Exparabionten nach ihrer spontanen Trennung die fehlenden Teile.

In einem weiteren Versuch wurde die Regenerationsfähigkeit der att-fu-Chimären im parabiologischen Zustand geprüft. Zu diesem Zweck wurden insgesamt 14 att-fu-Kombinate hergestellt, wobei att bei 7 in distaler, bei 7 in proximaler Position war. Gleichzeitig wurden 14 heteroplastische Kontrollen von att-att und 9 von fu-fu hergestellt.

Zwei Tage nach der Transplantation wurden Hypostom und Tentakel der att-fu-Chimären und der Kontrollen dicht unterhalb des Tentakelkranzes amputiert. Die folgende Regeneration der fehlenden Strukturen wurde bewertet, indem das Intervall zwischen

der Amputation einerseits und dem Auftreten der ersten Tentakelanlagen an der Amputationsstelle andererseits ermittelt wurde. Die durchschnittlichen Regenerationsraten für Chimären und Kontrollen sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Während eine gegenüber den att-att-Kontrollen verlängerte Regenerationszeit für att-fu-Artchimären mit att in distaler Position hochsignifikant ist ($P = 0,0001$), liegt für Chimären mit reziproker Anordnung, im Vergleich mit fu-fu-Kontrollen, die Irrtumswahrscheinlichkeit bei 10%. Das bedeutet, dass Artchimären zwar zu einer Regenerationsleistung befähigt sind, letztere aber schon nach zweitägiger Parabiose bezüglich ihres zeitlichen Verlaufes beeinträchtigt ist.

Kombination att-vir : Wie bereits andere Autoren (Campbell und Bibb, 1970; Bibb und Campbell, 1973) festgestellt haben, ist, im Gegensatz zu den meisten anderen Kombinationen, eine längere Parabiose von vir mit Arten ohne symbiontische Algen, also att, fu und car, nicht möglich. Parabiosen zwischen vir und der ebenfalls symbiontische Algen enthaltenden Chlorohydra hadleyi (Forrest) wurden dagegen als stabil beschrieben (Bibb und Campbell, 1973).

Die je 20 Artchimären, die zwischen att und vir in den beiden möglichen Kombinationen hergestellt wurden, trennten sich denn auch alle innerhalb des ersten auf die Transplantation folgenden Tages (vgl. Tabelle 2). Depressionserscheinungen konnten später weder bei den att- noch bei den vir-Exparabionten beobachtet werden, die beide nach erfolgter Trennung ungehindert die fehlenden Körperteile regenerativ neubildeten.

Kombination att-car : In Parabiosen zwischen att und car blieb die Grenze der verschiedenartigen Gewebe während der ganzen Parabiosedauer sichtbar (Figur 6). Eine Verschiebung der ento- und ektodermalen Gewebe, wie sie für att-fu-Artchimären beschrieben wurde, konnte in der Kombination att-car nicht festgestellt werden.

Unter den 29 Chimären mit car in distaler Position kam es während der ganzen Beobachtungsperiode zu keiner Trennung der Partner. Von den 30 reziproken Chimären mit att in distaler Stellung trennten sich deren 3 zwischen dem 7. und 9. postoperativen Tag. Die so entstandenen att-Exparabionten zerfielen alle 2 bis 4 Tage nach erfolgter spontaner Trennung, während ihre 3 ehemaligen car-Parabiosepartner Hypostom und Tentakel regenerierten, also keine negativen Symptome aufwiesen.

Die bereits für die Artkombination att-fu beschriebenen irreversiblen Depressionssymptome D_3 (bzw. d_3) traten in der Kombination att-car ausnahmslos in sämtlichen Fällen auf. Im Gegensatz zu den att-fu-Chimären, wo beide Arten von dieser Depression erfasst wurden, trat diese im vorliegenden Fall immer nur bei att auf (Figur 6), und zwar unabhängig von deren Position in der Chimäre (Tabelle 2). Während alle 30 distalen und alle 29 proximalen att-Partner infolge der Parabiose mit car zerfielen (D_3/d_3), zeigten nur 2 (6,9%) der 29 car-Stücke in distaler Parabioseposition vorübergehend die Depressionssymptome D_1 . Alle übrigen car-Teile zeigten keine negative Reaktion auf die Parabiose mit att und regenerierten nach Zerfall der att-Partner die fehlenden Teile in einem normalen Regenerationsprozess. att-Stücke wurden nach 8- bis 16-tägiger Parabiose mit car von D_3 (d_3) befallen.

3.1.2. Regenerationsleistungen von Exparabionten nach zeitlich beschränkten Parabiosen zwischen att und fu

Nachdem die Versuche mit Chimären, die in Dauerparabiose belassen wurden, gezeigt haben, dass der zwischenartliche Kontakt nicht ohne negative Folgen für die Partner ist (siehe 3.1.1.), stellte sich die Frage, welches die Auswirkungen eines kürzeren, zeitlich begrenzten Parabiosekontaktes sind, vor allem bezüglich der morphogenetischen Leistungsfähigkeit der Exparabionten. Dazu wurde in einer ersten Versuchsserie das regenerative

Verhalten von distalen, in einer zweiten Serie die Regenerationsfähigkeit von proximalen Exparabionten untersucht.

Zur Prüfung des regenerativen Leistungsvermögens von distalen Exparabionten wurden in der ersten Versuchsserie nach dem üblichen Verfahren (2.2.1.) 27 Chimären mit att in distaler und 24 Chimären mit fu in distaler Position hergestellt. 2 bis 4 Tage nach erfolgter Transplantation wurden die Partner mit Hilfe eines Mikroskalpelles wieder voneinander getrennt, wobei die Schnittführung etwas distal, d.h. oberhalb der Verwachsungsnaht (siehe Figur 1) gewählt wurde, um zu vermeiden, dass ausser den aktiv eingewanderten Zellen (siehe 3.1.4.) Epithelzellen des benachbarten Fragmentes mitisoliert wurden. In gleicher Weise wurden als Kontrolle von att-att 30 und von fu-fu 17 heteroplastische Kombinate transplantiert, die, wie die Chimären, nach 2, 3 oder 4 Tagen wieder zerlegt wurden.

Nach erfolgter Trennung wurde in dieser Serie das Schicksal der proximalen Stücke, sowohl der Chimären als auch der Kontrollen, nicht mehr weiter verfolgt.

Den distalen Exparabionten wurden 24 Stunden nach erfolgter Trennung Tentakel und Hypostom amputiert. Diese Stücke mussten nun sowohl die distalen Organe als auch den Stiel und die Fussdrüse regenerativ neu bilden. Für die Beurteilung der Regenerationsleistung wurde das Intervall zwischen der Amputation und dem Erscheinen der ersten Tentakelanlagen herangezogen. Die Regenerationsleistungen der von Artchimären stammenden Stücke wurden mit jenen der Kontrollen, die nie mit artfremden Geweben in Kontakt gestanden hatten, verglichen. Die Resultate sind in Tabelle 4a) zusammengefasst. Sie zeigt, dass sich sowohl att wie fu als ehemals distale Partner der Chimären durch einen signifikant ($P = 0,0001$) verzögerten Regenerationsablauf auszeichneten.

Vergleicht man die bei den att-Versuchstieren ermittelten Werte miteinander, weisen die Individuen, die 3 Tage in Para-

biose mit fu gestanden hatten, eine kürzere Regenerationszeit auf als jene, deren Parabiose auf 2 Tage beschränkt gewesen war. Die schlechtesten Regenerationsleistungen lieferten die Exparabionten, welche nach 4 Tagen von fu getrennt worden waren.

Ein Vergleich der erhaltenen Werte für distale fu-Exparabionten zeigt, dass Tiere nach 3-tägiger Parabiose eine kürzere Regenerationszeit aufweisen als solche, die nur 2 Tage mit att in Parabiose gestanden hatten. Aus den Befunden dieser Versuchsserie ist ersichtlich, dass distale Exparabionten nach kurzer, begrenzter Parabiose noch zu Regenerationsleistungen befähigt sind, dass jedoch ihre Regenerationszeiten, verglichen mit jenen von Kontrollen, deutlich verlängert sind.

In einer Versuchsserie, bei der die Regeneration proximaler Strukturen durch distale Exparabionten getestet werden sollte, kam es bei 10 von 20 distalen fu-Stücken im Laufe des Regenerationsgeschehens zu Polaritätsstörungen. Die fu-Stücke waren mit att als proximalem Partner während dreier Tage in xenoplastischer Parabiose gewesen und dann künstlich getrennt worden. Nach der Trennung waren die fu-Teile nicht in der Lage, eine Fussdrüse zu regenerieren. Vielmehr wuchsen aus dem Körperschlauch ungeordnet Tentakel aus, das Hypostom war oft nur schwer auszumachen und manchmal bildete sich eine zweite Körperachse in der Verlängerung der ersten aus, sodass sich Hypostom und Tentakelkranz in der Mitte der Rumpfsäule befanden (Figuren 7 und 8). Solche Polaritätsstörungen wurden bei distalen att-Stücken nie festgestellt. Neben diesen Polaritätsstörungen verhinderten Schwierigkeiten in der Beurteilung der Regenerationsleistungen eine Auswertung dieser Experimente.

In der zweiten Versuchsserie wurden zur Untersuchung der Regenerationsleistungen proximaler Exparabionten 18 proximale att-Hälften und 30 proximale fu-Teile nach 2- oder 3-tägiger Parabiose mit der anderen Art wieder vom Parabiosepartner

getrennt. Um eine Kontamination mit Epithelzellen des distalen Partners (ausser den Wanderzellen) zu verhindern, wurde der Trennungsschnitt etwas proximal der Verwachsungsgrenze gelegt (Figur 1). Als Kontrollen dienten je 19 proximale Teile von fu und att, welche 2 bzw. 3 Tage in heteroplastischer Parabiose gewesen und wie die Versuchstiere wieder voneinander getrennt worden waren.

Nach der Trennung der proximalen Teile von ihren Parabiosepartnern wurde deren Regenerationsleistung bezüglich distaler Strukturen beobachtet. Als Regenerationsrate wurde die von der Trennung der Parabiosepartner bis zum Auftreten der ersten Tentakelanlagen benötigte Zeit herangezogen. Tabelle 4b) zeigt die Resultate dieser Versuchsserie. Für proximale att-Teile konnte nach 2-tägiger ($P = 0,0001$) und nach 3-tägiger Parabiose ($P = 0,01$) eine gegenüber den Kontrollen signifikant verlängerte Regenerationszeit festgestellt werden. Auch proximale fu-Teile regenerierten sowohl nach 2 wie nach 3 Tagen xenoplastischer Parabiose im Vergleich zu den Kontrollen signifikant langsamer ($P = 0,0001$). Vergleicht man die Regenerationsleistungen von proximalen att-Teilen nach 2- und 3-tägiger Parabiose miteinander, so ergibt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten. Bei proximalen fu-Teilen weisen Versuchstiere nach 3-tägiger Parabiose eine kürzere Regenerationszeit auf als solche nach 2 Tagen Parabiose mit att.

Wie schon in der ersten Versuchsserie bei distalen Exparabionten wurde auch bei proximalen Exparabionten eine Fähigkeit zur Regeneration distaler Strukturen gefunden. Auch hier waren jedoch die Regenerationszeiten, verglichen mit jenen der Kontrollen, signifikant länger.

3.1.3. Wiederholte Transplantation von Parabiosepartnern nach künstlicher Trennung

In der folgenden Versuchsserie wurden xenoplastisch vereinigte Parabiosepartner in den Kombinationen att-fu und att-car nach einer zeitlich begrenzten Parabiosedauer von 4 Tagen wieder experimentell voneinander getrennt. Die proximalen Exparabionten wurden für den weiteren Verlauf der Experimente nicht mehr berücksichtigt. Diejenigen Exparabionten dagegen, welche in distaler Position gestanden hatten, wurden während den auf die Trennung folgenden 9 Tage, während der sie den fehlenden proximalen Teil regenerierten, einzeln gehalten. Nach Ablauf dieses Intervalles wurden sie erneut nach dem üblichen Verfahren (siehe 2.2.1.) mit proximalen Hälften von Tieren, welche zuvor noch nie für Transplantationsexperimente gebraucht worden waren, in xenoplastische Parabiose versetzt und auf ihr Verhalten hin untersucht (Figur 1).

Dieser Versuch sollte prüfen, ob der erste, zeitlich begrenzte, interspezifische Kontakt Auswirkungen hat auf eine spätere, erneute Konfrontation, ob sich nach einer wiederholten Gegenüberstellung Toleranz entwickeln oder eine mit verstärkten Reaktionen (Depressionen) verbundene Sensibilisierung einstellen würde.

Kombination att-fu : Von den insgesamt 32 hergestellten att-fu-Chimären, bei denen att die distale und fu die proximale Position einnahm, wurden 20 nach 4 Tagen Parabiosedauer wieder voneinander getrennt, während die restlichen 12 in Parabiose blieben und in der Folge als Kontrollgruppe dienten. Nach 9 Tagen, während der die getrennten Exparabionten Gelegenheit hatten, die fehlenden proximalen Strukturen zu regenerieren, wurden die att-Exparabionten erneut mit proximalen fu-Hälften zur Verwachsung gebracht. Die fu-Partner stammten von Tieren, welche nie zuvor mit att in Kontakt gestanden hatten.

Bei der reziproken Kombination (fu distal, att proximal) wurden insgesamt 34 Artchimären hergestellt. Deren 20 wurden nach 4 Tagen Parabiose wieder getrennt. Nach weiteren 9 Tagen wurden die fu-Exparabionten mit proximalen att-Hälften erneut in xenoplastische Parabiose versetzt. Diese att-Hälften stammten von Tieren, welche noch nie zuvor für Experimente gebraucht worden waren. Die verbleibenden 14 Artchimären wurden während der ganzen Beobachtungsdauer in Parabiose belassen und dienten als Kontrollen.

In beiden Kombinationen zeigten weder die wiederholt transplantierten Tiere noch jene der Kontrollgruppen irgendwelche Anzeichen von Depressionerscheinungen während der Beobachtungszeit, welche bis 4 Wochen nach der zweiten Transplantation dauerte.

Kombination att-car : Analog zur Kombination att-fu wurden Tiere der Arten att und car in xenoplastische Parabiose versetzt. 19 Artchimären mit car in distaler und att in proximaler Position wurden hergestellt. Davon blieben 9 während der ganzen Versuchsdauer in Parabiose und dienten als Kontrollen. 10 Chimären wurden nach 4-tägiger Parabiose wieder getrennt und die distalen car-Hälften während 9 Tagen gehalten und dann wieder mit neuen proximalen att-Hälften in xenoplastische Parabiose versetzt. Sowohl Versuchstiere (zweimalige Transplantation) wie auch Kontrolltiere (einmalige Transplantation) zeigten während der Beobachtungszeit (4 Wochen nach der zweiten Transplantation) keinerlei Depressionerscheinungen als Folge der Parabiose mit proximalen att-Hälften. In beiden Gruppen wurde jedoch der proximale Partner att in den Depressionszustand d_3 versetzt.

Bei der reziproken Kombination wurden anfänglich 13 Artchimären hergestellt (att distal, car proximal). 6 blieben als Kontrollen in Dauerparabiose, während die restlichen 7 nach 4 Parabiosetagen getrennt wurden, und die distalen att-Teile nach

weiteren 9 Tagen mit proximalen car-Hälften, welche von Tieren stammten, die noch nie für Experimente gebraucht worden waren, erneut in xenoplastische Parabiose versetzt. Die distalen att-Kontrollstücke (Dauerparabiose) zeigten durchschnittlich nach 13,3 Tagen Parabiose mit car den Depressionszustand D_3 (Standardabweichung $s = 5,3914$). Die att-Hälften, welche wiederholt transplantiert worden waren, wurden dagegen durchschnittlich 6,0 Tage nach der zweiten Transplantation von D_3 befallen ($s = 1,7321$). Der Vergleich der beiden Mittelwerte mit dem t-Test ergibt einen signifikanten Unterschied ($t = 16,3796$; $P = 0,001$). In att-car-Artchimären mit att in distaler Position wurde also bei att-Hälften nach wiederholter Transplantation eine gegenüber Kontrollen verkürzte Zeit bis zum Eintreten des Depressionszustandes D_3 festgestellt.

3.1.4. Austausch von Zellen zwischen Parabiosepartnern in Artchimären

Ausgehend von der Vermutung, wonach die bei xenoplastischen Transplantationschimären (3.1.1.) auftretenden Depressionerscheinungen die Folge eines Austausches von Wanderzellen und einer daraus resultierenden in situ-Unverträglichkeit sein könnten, wurde in der folgenden Versuchsserie geprüft, ob und in welchem Ausmass in der gegebenen Situation Zellen der einen Art in die Epithelien der anderen Art überwandern. Zu diesem Zweck wurden jeweils die Zellen des einen Pfropfungspartners entweder mit dem Fluoreszenzfarbstoff DAPI oder mit ^3H -Thymidin markiert, um das Auftreten so gekennzeichnete Zellen im unmarkierten Teil der Chimäre nachweisen zu können. Besondere Beachtung wurde dabei der Kombination att-car geschenkt, in der die Depressionerscheinungen besonders ausgeprägt ausgefallen waren (vgl. 3.1.1.).

Kombination att-fu : Der Austausch von Zellen zwischen Partnern in att-fu-Artchimären wurde durch Parabioseversuche untersucht, bei denen der eine Partner vor der Transplantation mit dem

Fluorochrom DAPI behandelt worden war (vgl. 2.2.5.). Bei 12 Chimären befand sich att in distaler und fu in proximaler Position, wobei 6 fluorochromierte att mit unbehandelten fu und 6 markierte fu mit unbehandelten att in Parabiose versetzt worden waren. Ebenso wurden 12 Chimären mit fu in distaler und att in proximaler Position hergestellt (davon waren bei 6 die proximalen, bei den anderen 6 die distalen Partner markiert worden). Die Chimären wurden 10, 24 und 36 Stunden nach der Transplantation im Fluoreszenzmikroskop analysiert. Nach 10 Stunden konnten bei beiden Kombinationen mit markierten distalen Partnern vereinzelte fluoreszierende Zellen in der Rumpfsäule bis hinauf in den Hypostombereich des unmarkierten Partners festgestellt werden. 24 Stunden und 36 Stunden nach der Transplantation waren auch die Tentakel von fluoreszierenden Zellen besiedelt, während in der Rumpfsäule eine deutliche Zunahme der eingewanderten Zellen im Vergleich zur 10-stündigen Parabiose zu beobachten war.

In distoproximaler Richtung konnte ebenso in den beiden reziproken Kombinationen eine Einwanderung von fluoreszierenden Zellen festgestellt werden. Nach 10 Stunden wurden in der ganzen proximalen Rumpfsäule fluoreszierende Zellen gefunden, verglichen mit der Einwanderung in proximodistaler Richtung nach der gleichen Zeitspanne, wurden aber weniger markierte Zellen festgestellt. Auch nach 24 und 36 Stunden erreichte die Einwanderung von Zellen von distal nach proximal nie das gleiche Ausmass wie in proximo-distaler Richtung.

Durch diese Befunde konnten die autoradiographischen Resultate von Mercolli (1977) qualitativ bestätigt werden. Mercolli zeigte, dass es während der Parabiose zwischen att und fu zu einer beträchtlichen Einwanderung von interstitiellen Zellen und deren Derivaten in die artfremden Gewebe kommt.

Kombination att-car : Der Zellaustausch zwischen Partnern in Artchimären von att und car wurde mit der nachfolgend beschrie-

benen Versuchsanordnung einer genaueren Prüfung unterzogen. Die Untersuchungen beschränkten sich dabei auf die Zellwanderung in proximodistaler Richtung, da auch in dieser Artkombination eine grössere Anzahl von Wanderzellen von proximal nach distal zu erwarten war als in umgekehrter Richtung. Je 10 radioaktiv (^3H -Thymidin) markierte proximale Hälften (vgl. 2.2.5.) von att und car wurden mit unmarkierten distalen Hälften der anderen Art in xenoplastische Parabiose versetzt und nach 1, 2, 3, 4 und 5 Tagen mit einem Mikroskalpell wieder voneinander getrennt (Figur 2), anschliessend mazeriert und für die autoradiographische Untersuchung präpariert (vgl. 2.2.5.). Von den fünf Gruppen mit unterschiedlicher Parabiosedauer wurden pro Kombination je 2 distale Chimärenhälften mazeriert und autoradiographisch ausgewertet. In jedem der Mazerationspräparate wurden 3-4000 unmarkierte Epithelzellen und die mit diesen im gleichen Flächenausschnitt erscheinenden, kernmarkierten Zellen nach Zelltypen geordnet ausgezählt. Als Kontrolle dienten pro Gruppe mit unterschiedlicher Parabiosedauer je 2 distale unmarkierte att-Hälften, die während 1, 2, 3, 4 bzw. 5 Tagen heteroplastisch mit radioaktiv markierten, proximalen att-Hälften in Parabiose gestanden hatten, und nach der erfolgten Trennung vom markierten Teil wie die Exparabionten der att-car-Chimären weiterbehandelt wurden.

Die mazerierten Zellen liessen sich in der Regel gut nach Typen (David, 1973) unterscheiden. Einige wenige kernmarkierte Zellen konnten hingegen nicht eindeutig einem bestimmten Zelltyp zugeordnet werden und wurden in der Folge als "nicht identifizierbare Zelltypen" klassiert. Die Schwierigkeiten bei der Identifizierung ergaben sich aus der Tatsache, dass die betreffenden Zellen sich in Zellverbänden befanden, welche nur ungenügend mazeriert worden waren. Aus diesem Grunde war ihre Zuordnung zu den einzelnen Typen erschwert. Neben den wenigen nicht identifizierbaren Zellen wurden im unmarkierten Gewebe kern-

markierte i-Zellen und deren folgende, markierte Derivate gefunden: Nematocyten, Nematoblasten und Nervenzellen. Geschlechtszellen, welche sich ebenso von i-Zellen ableiten lassen, wurden dagegen keine gefunden. Während i-Zellen und Nematocyten zu aktiver Wanderung befähigt sind, wandern Nematoblasten (Differenzierungsstadien der Nematocyten) und Nervenzellen nicht, d.h., dass sich die im artfremden Gewebe gefundenen letzteren beiden Zelltypen dort aus eingewanderten i-Zellen differenziert haben müssen.

Tabelle 5 fasst die Resultate dieser Versuchsserie zusammen. Daraus wird ersichtlich, dass die Einwanderung von Zellen aus proximalen, markierten att-Hälften in distale, unmarkierte car-Hälften mit einem Maximum am dritten Parabiosetag von 9,5 markierten Zellen, bezogen auf 1000 unmarkierte Epithelzellen, sehr gering ist. In der reziproken Kombination dagegen findet man am vierten Parabiosetag ein Maximum von 120,5 eingewanderten markierten car-Zellen, bezogen auf 1000 unmarkierte Epithelzellen in der distalen att-Hälfte. Die Anzahl von Wanderzellen in proximo-distaler Richtung in Artchimären mit car in proximaler Position liegt damit, abgesehen vom fünften Tag, in der Nähe der für heteroplastische att-att-Kontrollchimären ermittelten Werte. Dies geht auch aus dem in Figur 9 dargestellten Vergleich der drei untersuchten Kombinationen bezüglich der Totalzahlen von eingewanderten Zellen in proximodistaler Richtung hervor.

Eine Gegenüberstellung der nach verschiedener Parabiose-dauer gezählten eingewanderten Zellen in der Kombination mit unmarkierten car-Hälften in distaler und markierten att-Hälften in proximaler Position zeigt am ersten Tag die kleinste Zahl von eingewanderten Zellen (0,875), diese steigt am zweiten Tag an (7,75) und erreicht am dritten Tag ein Maximum (9,5), um am vierten Tag (3,0) und am fünften Tag (3,625) wieder abzusinken.

Ein Vergleich der reziproken Kombination (unmarkierte att distal, radioaktiv markierte car proximal) zeigt nach 58,5 einge-

wanderten Zellen auf 1000 epitheliale, unmarkierte Zellen am ersten Tag, zunächst ein Absinken auf 44 Zellen am zweiten Tag, um am dritten Tag auf 92,5 Zellen anzusteigen und am vierten Tag mit 120,5 Zellen das Maximum zu erreichen. Am fünften Tag wurden noch 40 eingewanderte Zellen pro 1000 unmarkierte Epithelzellen gezählt.

In heteroplastischen Kontrollchimären betrugen die entsprechenden Totalzahlen 79,6 für den ersten Tag, 77,0 für den zweiten, 63,75 für den dritten, 111,0 für den vierten und 114,25 für den fünften Tag.

Den grössten Anteil an markierten Zellen machten in allen 3 untersuchten Kombinationen und in allen 5 Parabiosedauerkategorien die Nematocyten und Nematoblasten aus, wobei letzterer Zelltyp immer die grösste Klasse stellte. Nervenzellen und i-Zellen wurden dagegen deutlich weniger gefunden und nicht identifizierbare Zellen waren sehr selten. Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass von car zu att eine den heteroplastischen Kontrollkombinationen (att-att) vergleichbare Ueberwanderung von Zellen gefunden wurde, während von att zu car eine sehr geringe Zellwanderung stattfand.

Kombination att-vir : Zur Untersuchung der zwischenartlichen Zelldynamik bei Artchimären zwischen att und vir wurde, wie bei der Kombination att-fu, der eine Partner vor der Transplantation mit dem Fluorochrom DAPI behandelt (vgl. 2.2.5.). Dabei wurden insgesamt 10 Artchimären mit att in distaler und vir in proximaler Position hergestellt. Bei deren 5 wurden DAPI-markierte att mit unmarkierten vir kombiniert, bei den anderen 5 waren die vir-Hälften vor der Transplantation fluorochromiert und anschliessend mit unmarkierten att in Parabiose versetzt worden. Von der reziproken Kombination (vir distal, att proximal) wurden ebenso 10 Chimären hergestellt, bei deren 5 war der proximale Partner, bei den restlichen 5 der distale Partner vor der Transplantation mit

DAPI markiert worden. Die Kombinate wurden 10 und 24 Stunden nach der Transplantation im Fluoreszenzmikroskop analysiert. Während nach 10 Stunden die Chimären noch intakt waren, hatten sich die Parabiosepartner nach 24 Stunden spontan getrennt (vgl. Tabelle 1). Die Untersuchung nach 24 Stunden wurde daher an Exparabionten durchgeführt. Während bei der Artkombination att-fu (siehe oben) eingewanderte fluoreszierende Zellen schon 10 Stunden nach der Transplantation im Hypostom des distalen unbehandelten Parabiosepartners beobachtet werden konnte, waren nach der gleichen Zeitspanne bei distalen Partnern der Kombination att-vir in Parabiose mit DAPI-markierten proximalen Teilen nur wenige fluoreszierende Zellen und die ausschliesslich in unmittelbarer Nähe der Pfropfungsgrenze zu finden. In distoproximaler Richtung wurden ebenso nur vereinzelte fluoreszierende Zellen in nächster Nähe der Verwachsungsgrenze gesehen. Diese eingewanderten, fluoreszierenden Zellen waren nach der spontanen Trennung der Parabiosepartner nach 24 Stunden in den unbehandelten Exparabionten nicht mehr zu finden.

3.1.5. Histologische Untersuchungen von Artchimären

Artchimären wurden in unterschiedlichen Zeitabständen nach ihrer Herstellung fixiert und für die histologische Analyse so eingebettet (vgl. 2.2.3.), dass die Schnitte parallel zur Längsachse der Chimären angefertigt werden konnten.

Kombination att-fu : Artchimären der beiden reziproken Kombinationen zwischen att und fu wurden in Zeitabständen von 1, 2, 4, 7,5 Stunden, sowie 1, 3, 4, 7, 9, und 15 Tagen nach erfolgter Transplantation fixiert. Auf den meisten histologischen Schnitten war die Verwachsungsnaht zwischen den beiden Arten während den angegebenen Zeiten noch gut sichtbar. Im Ektoderm war die Grenze der artfremden Gewebe durch eine deutliche Einkerbung gekennzeichnet. Ein Kontakt zwischen den ektodermalen Zellen der beiden Arten bestand zwar in allen untersuchten Chimären, die Länge der

Kontaktzone war jedoch, verglichen mit artgleichen Zellen, auf etwa die Hälfte beschränkt. Der entodermale Kontakt zwischen artfremden Zellen war dagegen bei allen untersuchten Chimären ausgeprägter als jener im Ektoderm. Im Gegensatz zu dem bei artgleichen Entodermzellen gefundenen kontinuierlichen Kontakt, wechselten sich jedoch bei der entodermalen Verwachsungsgrenze Berührungsstellen mit Orten ohne zellulären Kontakt ab. Ob und allenfalls in welchem Ausmass im Ektoderm und im Entoderm zwischenartliche Cell-junctions gebildet werden, liess sich auf den Semidünnschnitten nicht ermitteln (Figuren 10 und 11).

Auch äusserlich depressive att-fu-Chimären zeigten in ihrem histologischen Erscheinungsbild keine auffallenden Veränderungen. Die ektodermalen Epithelzellen waren wie jene der heteroplastischen att-att-Kontrollen stark vakuolisiert. Auf den Schnitten von att-fu-Chimären war distal der Verwachsungsgrenze bei beiden Arten ein gehäuftes Auftreten von interstitiellen Zellen und Nematoblasten festzustellen.

Figur 10 zeigt einen für diese Artkombination repräsentativen Längsschnitt durch eine 4 Tage alte Chimäre mit att in distaler Position. Die schon grobmorphologisch sichtbare Verschiebung der ekto- und entodermalen Epithelzellen (vgl. 3.2.1.) fand in den histologischen Präparaten ihre Bestätigung. Während die Artgrenze im Ektoderm durch eine im Epithel auftretende Einkerbung gekennzeichnet ist, erkennt man im Entoderm die um mehrere Zellbreiten verschobene Kontaktstelle der beiden Arten an den ungleichen Einschlüssen der entodermalen Zellen.

Figur 11 zeigt einen vergrösserten Ausschnitt von Figur 10. Darauf ist das gehäufte Auftreten von i-Zellen und Nematoblasten im Ektoderm des distalen Partners in der Nähe der Verwachsungsnäht zu erkennen. Auf den Figuren 10 und 11 lässt sich zudem eine Verdickung der Mesogläa feststellen. Diese Verdickung reicht von der ektodermalen Verwachsungsnäht bis über den Bereich der

entodermalen Artgrenze hinaus. Auf keinem der untersuchten Schnitte dieser Artkombination wurde eine Diskontinuität der Mesogläa gefunden.

Kombination att-vir : Artchimären der beiden möglichen Kombinationen zwischen att und vir wurden 1.5, 2, 4, 7 und 22 Stunden nach der Transplantation fixiert. Die histologischen Untersuchungen der Parabiosepartner att und vir, die sich im Laufe von 24 Stunden wieder trennten (siehe 3.2.1.), zeigen, dass die ektodermalen Zellen der beiden Arten keinen Kontakt aufnehmen (Figur 12). Im ektodermalen Bereich der Pfropfungsgrenze scheint die Mesogläa sogar ungedeckt in direktem Kontakt mit dem Aussenmedium zu stehen. Auf Semidünnschnitten lässt sich jedoch nicht beurteilen, ob sich an jener Stelle wirklich kein zelluläres Material zwischen der Mesogläa und dem Aussenmedium befindet. Die ektodermale Pfropfungsgrenze bleibt bis zur Trennung der beiden Partner stets deutlich sichtbar. Im Entoderm, wo dank der symbiontischen Algen in den vir-Zellen eine Unterscheidung der artfremden Elemente keine Probleme bietet, ist dagegen ein, wenn auch lockerer, Kontakt zwischen att- und vir-Zellen festzustellen. Während der ganzen, kurzen Parabiosezeit werden die beiden Chimärenhälften also nur vom Entodermgewebe und von der Mesogläa zusammengehalten, während das Ektoderm offensichtlich keinen Beitrag zur Aufrechterhaltung des Kontaktes leistet.

Die Zellen der beiden Parabiosepartner zeigten auf allen untersuchten Präparaten keine morphologischen oder strukturellen Veränderungen im Vergleich zu Kontrollen.

Obwohl die Parabiose 24 Stunden kaum überdauert, sind die bereits in anderen Kombinationen beobachteten Verschiebungen von entodermalen und ektodermalen Geweben gegeneinander auch hier zu finden. Dabei wurde, ungeachtet der jeweiligen Lage der Arten zueinander, stets das Entoderm von att vom Ektoderm von vir überlagert (Figur 12).

Kombination att-car : Artchimären zwischen att und car wurden nach 3, 6 und 14 Tagen fixiert (2.2.3.). Auf allen untersuchten Präparaten war die Verwachsungsnaht sichtbar. Im Ektoderm war sie durch eine bis zur Mesogläa reichenden Einkerbung gekennzeichnet (Figur 13). Ein Kontakt zwischen den artfremden Ektodermzellen konnte nicht festgestellt werden. Obwohl eine Unterscheidung der entodermalen Gewebe in diesem Fall schwieriger war als in den beiden vorangegangenen Beispielen (att-fu und att-vir), erlaubte die reduzierte Kontaktnahme der artfremden Gewebe eine recht genaue Festlegung der entodermalen Artgrenze. Im Gegensatz zu der ausgeprägten Kontaktnahme zwischen artgleichen Entodermzellen, waren im Bereich der Verwachsungsnaht die entodermalen Kontakte teilweise unterbrochen. Während sich die Zellen von att- und car-Kontrolltieren im histologischen Erscheinungsbild kaum unterscheiden, wurden in Präparaten von att-car-Chimären augenfällige Veränderungen der att-Gewebe beobachtet. Drei Tage nach der Transplantation hatten alle Zellen der mit car in Parabiose stehenden att-Gewebe die bei Kontrollen gefundene starke Vakuolisierung verloren. Die Grenzen der einzelnen Zellen waren kaum mehr feststellbar, und das Zytoplasma erschien sehr dicht (Figur 13). Nach 6 Tagen war die Desintegration der Zellen weiter vorangeschritten und 14 Tage nach der Transplantation waren fast nur noch nekrotische Zellen zu finden. Die car-Gewebe von att-car-Chimären dagegen waren auf allen untersuchten Präparaten mit car-Kontrolltieren vergleichbar. Die Mesogläa war in dieser Kombination ebenso wie in den vorangegangenen Beispielen (att-fu, att-vir) nicht unterbrochen. Eine Verdickung der Mesogläa, wie sie bei att-fu-Chimären gefunden worden war, wurde in att-car-Kombinationen nicht festgestellt. Ebenso wurden die für att-fu und att-vir beschriebene ungleiche Verschiebung der entodermalen und der ektodermalen Verwachsungsnaht bei att-car-Chimären nicht gefunden.

Figur 13 zeigt eine att-car-Chimäre nach 3-tägiger Parabiose. Deutlich sind darauf die ektodermale Verwachsungsnaht und die beginnende Desintegration der Zellen in der att-Hälfte zu sehen.

3.2.0. INTER- UND INTRASPEZIFISCHE ZELLAGGREGATE

Nachdem gezeigt werden konnte (3.1.4.), dass bei gewissen Artkombinationen (att-fu) eine Zellwanderung ins artfremde Gewebe, bzw. eine Durchmischung artfremder Zellen möglich ist, dass diese Ueberwanderung in anderen Kombinationen jedoch nur in einer Richtung (att-car) oder überhaupt nicht (att-vir) stattfindet, stellte sich die Frage, ob die Zellen von Hydra in der Lage sind, derart eingewanderte Zellen als artfremd zu erkennen, und in irgendeiner Weise auf diese Invasion zu reagieren, oder ob sich dabei eine Toleranz, ja sogar eine Zusammenarbeit zwischen artfremden Zellen einstellt.

Wegen der grossen Variabilität der Einwanderungsraten von Zellen bei Transplantationschimären (3.1.4.) wurde in einer weiteren Serie von Versuchen das Verhalten von dissoziierten und anschliessend zu inter- und intraspezifischen Aggregaten reaggregierten Geweben analysiert. Dieses Verfahren gibt die Möglichkeit, gewünschte Mischverhältnisse zwischen artfremden Zellen herzustellen und, da die Aggregate zu regenerativen Leistungen gezwungen werden, eine mögliche Zusammenarbeit verschiedenartlicher Zellen im Rahmen dieser morphogenetischen Prozesse zu prüfen. Neben dem Problem der Kooperation von Zellen zweier Arten bei der Rekonstruktion eines zweischichtigen Organismus aus dem heterospezifischen Reaggregat dissoziierter Zellen, interessierte insbesondere, ob die Zellen in der Lage sind, zwischen artfremd und arteigen zu unterscheiden und als eine Folge davon zu segregieren und artreine Aggregate zu bilden.

3.2.1. Die Entwicklung homospezifischer Aggregate

Zur Untersuchung des zeitlichen Verlaufes der Entwicklung homospezifischer Reaggregate wurden nach dem in 2.2.2. beschriebenen Verfahren 69 Aggregate von att, 67 von fu, 25 von vir und 22 von car hergestellt. Die untersuchten homospezifischen Aggregate aller 4 Arten zeigten einen übereinstimmenden zeitlichen Verlauf der frühen Entwicklung: Die anfänglich unförmigen Zellklumpen waren nach etwa 6 Stunden kugelförmig geworden und hatten eine glatte Oberfläche ausgebildet. Nach weiteren 1 bis 2 Stunden bildete eine milchig-transparente Zellschicht die äussere Umhüllung um eine dunkler pigmentierte innere Zellmasse. Dies kann als Indiz für eine erfolgte Segregation ento- und ektodermaler Zellen angesehen werden. Durch histologische Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass die Mesogläa nach 10 bis 12 Stunden neu gebildet worden war. Für den weiteren Entwicklungsverlauf wichen die Zeiten für vir einerseits und att, fu und car andererseits voneinander ab. Bei att, fu und car erschienen nach 40 bis 45 Stunden Tentakelknospen und 60 bis 70 Stunden nach der Reaggregation wurden Hypostome gebildet, während für vir-Aggregate nach 50 bis 60 Stunden das gleichzeitige Erscheinen von Hypostomen und Tentakelanlagen registriert wurden. Diese Befunde stimmen mit den von Gierer et al. (1972) für att und von Bode (1974) für vir gemachten Angaben überein.

3.2.2. Die Entwicklung heterospezifischer Mischaggregate der Arten att und fu

Die Entwicklung heterospezifischer Mischaggregate aus Zellen der Arten att und fu wurde mit jener der homospezifischen Aggregate (3.2.1.) verglichen. Durch ein entsprechendes Mischverhältnis der arteigenen Einzelzellsuspensionen wurden Mischaggregate der folgenden Verhältnisse hergestellt : att:fu = 1:1 (62 Aggregate); 1:2 (17); 2:1 (24); 1:4 (12); 4:1 (15); 1:10 (22) und 10:1 (25). Der zeitliche Ablauf der Entwicklung der heterospezifischen

Mischaggregate mit unterschiedlichen Mischverhältnissen wird in Tabelle 6 jenem homospezifischer Aggregate gegenübergestellt. Daraus geht hervor, dass die heterospezifischen Aggregate, verglichen mit homospezifischen, verzögerte Entwicklungszeiten aufwiesen. Für Aggregate mit dem Mischverhältnis att:fu = 1:1 wurde das Erreichen einer glatten Oberfläche 12 bis 14 Stunden nach Reaggregation gefunden (bei homospezifischen Kontrollen 6 Stunden). Eine Neubildung der Mesogloä, deren Erscheinen mit histologischen Mitteln festgestellt wurde, war nach 20 bis 24 Stunden abgeschlossen (10 bis 12 Stunden in homospezifischen Kontrollen). Bis zum Auftreten von Tentakelanlagen verstrichen 55 bis 65 Stunden (40-45 Stunden in Kontrollen) und Hypostome tauchten 80 bis 90 Stunden nach der Reaggregation auf (in homospezifischen Aggregaten nach 60 bis 70 Stunden). Je weiter die Anteile der beiden Arten in heterospezifischen Aggregaten vom 1:1-Verhältnis entfernt waren (1:2, 1:4, 1:10), desto mehr näherten sich die Entwicklungszeiten der Mischaggregate jenen der homospezifischen Kontrollen. Heterospezifische Aggregate mit reziproken Mischverhältnissen (z.B. 1:2 und 2:1) wiesen dabei ähnliche Zeiten bis zum Erreichen der einzelnen Entwicklungsstadien auf.

Einzelzellen der Arten att und fu sind also in der Lage, bei der Wiederherstellung eines diploblastematischen Zustandes und der Regeneration von Strukturen zu kollaborieren. Verglichen mit homospezifischen Aggregaten sind jedoch die Entwicklungszeiten heterospezifischer Mischaggregate deutlich verlängert. Figur 14 zeigt ein homospezifisches att-Reaggregat nach 48 Stunden Entwicklungszeit mit deutlichen Tentakelknospen neben einem gleichaltrigen att-fu-Mischaggregat (Mischverhältnis = 1:1) ohne Anzeichen von Tentakelanlagen. Neben diesen Verzögerungen in der Entwicklung wiesen Mischaggregate, verglichen mit homospezifischen Aggregaten, eine geringere Überlebensrate auf. Während den kritischen ersten 20 bis 30 Stunden nach der Reaggregation zerfielen von den insgesamt 136 hergestellten homospezifischen

Aggregaten der Arten att und fu deren 29 (21,3%), in der gleichen Zeitspanne desintegrierten 62 (35%) der insgesamt 177 att-fu-Mischaggregate. Die schon für Artchimären beschriebenen Depressionssymptome D_1 , D_2 , und D_3 (3.1.1.), wurden auch bei heterospezifischen Mischaggregaten beobachtet.

3.2.3. Zelldynamik in heterospezifischen Aggregaten in den ersten 48 Stunden nach der Reaggregation

Zum Nachweis einer allfälligen Segregation von Zellen in Mischaggregaten, wurden jeweils die Tiere der einen Art 24 Stunden vor der Dissoziation mit dem Fluoreszenzfarbstoff DAPI behandelt, die Tiere der anderen Art blieben dagegen unbehandelt. Ebenso wurden Versuche gemacht, bei denen die Tiere der einen Art mit FITC, jene der anderen Art mit RITC vorbehandelt wurden (2.2.5.). Nach der Reaggregation wurde das Muster der fluoreszierenden Zellen im Fluoreszenzmikroskop analysiert. In den Mischaggregaten, bei denen der eine Partner mit FITC, der andere mit RITC markiert worden war, konnte durch Veränderung der Filterkombinationen (vgl. 2.2.5.) während der Beobachtung im Fluoreszenzmikroskop, am gleichen Objekt einmal die Verteilung der Zellen der einen Art und dann die reziproke Anordnung der Zellen der anderen Art beobachtet werden. Die Photographien des Fluoreszenzmikroskopes zeigen gezwungenermaßen nur die Bilder einer Fokussierungsebene, während die Analyse im Mikroskop die räumliche Anordnung der Zellen auf den sphärischen Aggregaten berücksichtigen konnte. Für die Artkombinationen att-fu und att-vir wurden zusätzlich zu den Fluoreszenzversuchen Experimente mit radioaktiver Markierung des einen Aggregationspartners unternommen. Die Interpolation der von histologischen Schnitten erhaltenen Resultate auf die kugelförmigen Aggregate erwies sich jedoch als sehr schwierig, sodass die Ergebnisse der Autoradiographieversuche nur in Kombination mit den aus den Fluoreszenzexperimenten erhaltenen Resultaten interpretierbar waren. Zudem mussten die Aggregate für die Autoradio-

graphie fixiert werden, die histologischen Schnitte zeigen daher nur den Zustand zu einem bestimmten Zeitpunkt, während bei den Fluoreszenzversuchen das gleiche Aggregat immer wieder lebend beobachtet werden konnte. Um einen Einfluss der Fluorochrome und des radioaktiven Thymidins auf das Verhalten der Zellen ausschliessen zu können, wurden in homospezifischen Kontrollaggregaten ein Teil der Zellen vor der Reaggregation radioaktiv oder mit Fluorochromen markiert. Aus dem gleichen Grunde wurde bei allen Versuchen jeweils alternierend die eine oder die andere Art markiert.

Kombination att-fu : Die 38 mit Fluorochromen markierten Mischaggregate dieser beiden Arten mit einem Mischverhältnis von 1:1 zeigten in keiner Phase der Regeneration während der ersten 48 Stunden Anzeichen einer Clusterbildung von Zellen der einen Art. Das gleiche Resultat wird auch nach Veränderung der Mischverhältnisse erhalten. Auch bei den Verhältnissen att:fu = 1:2 (12 Aggregate), 2:1 (10 Aggregate), 1:4 (8 Aggregate), 4:1 (10 Aggregate), 1:10 (12 Aggregate) und 10:1 (15 Aggregate) findet man die Zellen der beiden Arten zufällig im Aggregat verteilt. Figur 15 zeigt die Fluoreszenzphotographie eines 1:1-Mischaggregates 9,5 Stunden nach der Reaggregation. Die att-Zellen waren vor der Reaggregation mit DAPI markiert worden, während die fu-Zellen unbehandelt blieben. Diese Befunde wurden durch die Ergebnisse der Autoradiographieversuche unterstützt. Auf allen autoradiographischen Präparaten dieser Artkombination waren radioaktiv markierte Zellen zufällig auf den histologischen Schnitten der Aggregate verteilt.

Kombination att-vir : Wegen den symbiontischen Algen im Entoderm von vir ist in dieser Artkombination ein Verfolgen der Zelldynamik auch ohne irgendwelche Markierung, wenigstens im Entoderm, möglich. Insgesamt 58 att-vir-Mischaggregate mit dem Mischverhältnis 1:1 wurden hergestellt und auf das Segregationsverhalten ihrer Komponenten hin untersucht. Bei 12 Aggregaten blieben

die Zellen beider Arten unmarkiert (Beobachtung anhand des natürlichen Algenmarkers), 31 Aggregate wurden mit Hilfe von Fluorochromen untersucht und bei 15 Aggregaten wurden die Zellen des einen Partners mit ^3H -Thymidin radioaktiv markiert (2.2.5.). In allen untersuchten Aggregaten wurde anfänglich eine homogene Durchmischung der Zellen der beiden Arten festgestellt. Nach 5 Stunden dagegen waren bei allen drei Beobachtungsmethoden schon deutliche Cluster von vir-Zellen zu sehen. Diese wurden allmählich aus dem Aggregat eliminiert, bis nach etwa 20 Stunden keine vir-Zellen mehr in den Aggregaten gefunden werden konnten. Das Aggregat bestand somit nur noch aus att-Zellen, während die in kleinen Portionen ausgeschiedenen vir-Zellen nicht in der Lage waren, artreine Aggregate zu bilden, sondern allmählich wieder in Einzelzellen zerfielen. Figur 16 zeigt ein att-vir-Aggregat im Mischverhältnis 1:1 5 Stunden nach der Reaggregation. Die entodermalen Zellen von vir haben einzelne Zellhaufen gebildet und sind dank der symbiontischen Algen gut von den att-Zellen zu unterscheiden.

Eine Veränderung der Zellzahlen zugunsten von att (12 Aggregate im Verhältnis att:vir = 2:1, DAPI-Markierung des einen Partners) führte zu den gleichen Befunden.

Eine Verschiebung des Mischverhältnisses zugunsten des vir-Anteiles führte dagegen zu anderen Resultaten. 26 att-vir-Aggregate vom Mischverhältnis att:vir = 1:2 wurden hergestellt. Vor der Reaggregation waren dabei in 8 Fällen die vir-Zellen, in 18 Fällen die att-Zellen mit DAPI markiert worden. Nach anfänglich homogener Durchmischung der artfremden Zellen waren nach 10 bis 12 Stunden deutliche Anhäufungen von att-Zellen zu beobachten. Diese wurden nach 20 bis 24 Stunden in einzelnen kleineren Zellhaufen aus dem Aggregat eliminiert. 40 Stunden nach der Reaggregation waren nur noch vereinzelte att-Zellen im Aggregat feststellbar. Dies ist nicht etwa auf einen Verlust des Fluoreszenzfarbstoffes zurückzuführen, denn homospezifische att-Aggregate zeigten

auch nach mehreren Tagen und sogar Wochen eine deutliche Markierung im Fluoreszenzmikroskop, wenn sie vor der Reaggregation mit DAPI behandelt worden waren. Figur 17 zeigt die in einem Mischaggregat von att und vir (Mischverhältnis att:vir = 1:2) 11,5 Stunden nach der Reaggregation gefundene Anhäufung von DAPI-markierten att-Zellen. In den Figuren 18 und 19 ist in einem Aggregat mit dem gleichen Mischverhältnis nach 23 Stunden die Elimination der DAPI-markierten Zellen aus dem Aggregat zu sehen.

Ebensowenig wie die ausgestossenen vir-Zellen waren eliminierte att-Zellen in der Lage, ein eigenes Regenerat zu bilden. Die ausgestossenen lockeren Zellhaufen zerfielen im Gegenteil bald nach deren Elimination aus den Aggregaten. Dieses Phänomen könnte möglicherweise auf einer Schädigung der unterlegenen Zellen beruhen, wahrscheinlich scheitert die Bildung eines Aggregates jedoch an der zu geringen Masse des ausgestossenen Materials.

Kombination att-car : 10 Mischaggregate im Verhältnis 1:1 wurden in dieser Artkombination hergestellt. Bei deren 5 war att, bei den anderen 5 car vor der Reaggregation mit DAPI markiert worden. Die homogene Durchmischung der Zellen der beiden Arten veränderte sich während den ersten 48 Stunden nach der Reaggregation nicht. Vom Mischverhältnis 2:1 bzw. 1:2 wurden je 6 Aggregate hergestellt, wobei in jeder Gruppe bei je 3 Aggregaten att, bei den anderen 3 car mit DAPI markiert worden waren. Auch diese Veränderung des Mischverhältnisses führte jedoch nicht zu einer artspezifischen Segregation der Zellen, diese wiesen im Gegenteil eine zufällige Verteilung in den Aggregaten auf.

Zusammenfassend kann zu den Segregationsexperimenten festgestellt werden, dass in att-fu- und att-car-Mischaggregaten kein Segregationsverhalten der artfremden Zellen gefunden wurde. In att-vir-Aggregaten dagegen wurden jeweils die Zellen der einen Art aus

dem Aggregat eliminiert und waren in der Folge nicht in der Lage, homospezifische Regenerate zu bilden.

4.0.0. DISKUSSION

Die Resultate der in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen, in denen Zellen und Zellverbände von Hydra-Arten (H. attenuata Pall. (att), H. fusca L. (fu), H. viridis L. (vir) und H. carnea L. Agassiz (car)) zu je zwei Spezies im xenoplastischen Transplantationsexperiment sowie in heterospezifischen Zellaggregaten miteinander konfrontiert wurden, gliedern sich bezüglich der Verträglichkeiten, bzw. Unverträglichkeiten in zwei Gruppen : die erste umfasst die Artkombination att-vir, die zweite jene zwischen att-fu und att-car.

Die mit att und vir hergestellten Transplantationschimären erwiesen sich als sehr instabil, trennten sich die Partner doch stets spontan innerhalb der ersten auf die Transplantation folgenden 24 Stunden (3.1.1. und Tabelle 2). Dieser Befund steht im Einklang mit den von Campbell und Bibb (1970) und Bibb und Campbell (1973) gemachten Beobachtungen, wonach analoge Chimären zwischen vir und Pelmatohydra oligactis Hyman (Syn. Hydra fusca) sich ebenfalls spontan voneinander trennten. Hydra viridis scheint jedoch nicht "a priori" unfähig zu sein, mit anderen Arten parasitische Dauerbeziehungen einzugehen, sind doch Chimären mit der ebenfalls symbiontische Zoochlorellen enthaltenden Chlorohydra hadleyi (Forrest) nach Angaben von Bibb und Campbell (1973) stabil. Die Instabilität der mit vir einerseits und den "braunen" Arten (att, fu, car) andererseits hergestellten Transplantationschimären weist vielmehr daraufhin, dass die beiden Artgruppen im nach wie vor umstrittenen System der Hydridae (Hyman, 1940; Ewer, 1948; Honegger, 1978) voneinander bereits weit entfernte Positionen innehaben. Diese Vermutung wird noch durch die in der vorliegenden Arbeit gemachten Feststellung unterstützt, wonach im Fall der heterospezifischen Zellaggregate die Kombinationen

mit vir die einzigen waren, bei denen es zu einer deutlichen art-typischen Segregation der artfremden Komponenten kam.

In der zweiten, die Arten Hydra attenuata, H. fusca und H. carnea umfassenden Gruppe, kam es dagegen niemals zu derart eindeutigen Äusserungen der zwischenartlichen Unverträglichkeit. Bis zu einem gewissen Grad konnten sogar Anzeichen einer zwischenartlichen Zusammenarbeit festgestellt werden, die sich u.a. darin äusserte, dass bei Transplantationschimären Wanderzellen (i-Zellen, Nematocyten) der einen Art in die Epithelien der anderen Art eindringen (3.1.4.). Dass diese interspezifische Kollaboration nicht problemlos ist, dafür zeugt die Feststellung, wonach, im Gegensatz zu homospezifischen Kombinationen (Kontrollen) die Verwachsungsnaht zwischen den artfremden Partnern stets deutlich sichtbar blieb (3.1.1. und Figuren 3-6), sowie die Tatsache, dass es auch hier, allerdings meist zu einem späteren Zeitpunkt der Parabiose (Tabelle 1), zu spontanen Trennungen der Partner kam. Ein weiteres, auf Unverträglichkeit innerhalb dieser Gruppe hin-deutende Phänomen, sind im Fall der Transplantationschimären die zum Teil zum Zerfall eines Partners führenden Depressionerscheinungen, die infolge eines dauernden Kontaktes mit einem artfremden Partner auftraten (3.1.1.). Dieser "killing-effect", den Noda (1970b) in Mischkulturen der beiden Arten Hydra magnipapillata und Pelmatohydra robusta und Theodor (1970) im Fall von Parabiosen zwischen gattungsfremden Gorgonaria (Anthozoa, Octocorallia) ebenfalls beobachtet haben, wirkte sich meist einseitig aus, wobei bei att-fu-Chimären häufiger fu und bei att-car-Kombinaten stets att in den Depressionszustand versetzt wurden (Tabelle 2).

Die Unverträglichkeiten, wie sie innerhalb der ersten Gruppe zwischen vir und att und in der zweiten Gruppe bei den drei anderen, "braunen" Arten auftraten, müssen als grundsätzlich verschieden gewertet werden. Im ersten Fall, also zwischen vir

und att, ist offenbar die Erstellung von dauerhaften zwischenartlichen Zellkontakten und damit jede zwischenartliche Kollaboration ausgeschlossen. In der zweiten Gruppe dagegen, wo zwischen den artfremden Transplantationspartnern über Wochen hin stabile Verwachsungsnahte erhalten bleiben, was für eine gegenseitige Verankerung der artfremden Zellen spricht, manifestierte sich die Inkompatibilität zu einem späteren Zeitpunkt der Parabiose und aufgrund anderer zwischenartlicher Störungen. Eine Vermutung geht dahin, dass in diesem Fall, wo durch Einwanderung artfremder Elemente Zellgemische entstehen, die Inkompatibilität auf den Erschwerissen einer harmonischen Zusammenarbeit der artfremden Zellen beruhen. Dieser Umstand hat sich in den vorliegenden Versuchen einerseits in den Depressionen (3.1.1.), andererseits in der verringerten morphogenetischen Leistungsfähigkeit regenerierender Exparabionten bemerkbar gemacht (3.1.2.).

Dass es bei Transplantationschimären zwischen artfremden Partnern zu einem Austausch von Wanderzellen kommt (3.1.4.), ist bereits von Burnett (1960) im Fall der Arten Hydra pseudoligactis und H. littoralis und von Mercolli (1977) bei H. attenuata und H. fusca festgestellt worden. In einer anderen Artkombination (Hydra pseudoligactis/H. pirardi; Diehl und Burnett, 1966) wurde jedoch das Ausbleiben dieses histodynamischen Geschehens festgestellt.

Bei den in der vorliegenden Arbeit behandelten Transplantations-Kombinationen zwischen att, fu und car war, mit einer Ausnahme, die Parabiose stets mit einer Einwanderung von interstitiellen Zellen und Nematocyten in die Epithelien des Kontrahenten verbunden. Diese Ausnahme betrifft die Kombination att-car, wo Zellen nur in einer Richtung, von car in att, einwanderten (3.1.4.). Hydra attenuata war in diesem Fall weitgehenden Depressionen unterworfen, während diese Erscheinungen bei car ausblieben. Dies bezeugt erneut, dass die Depressionen mit der Anwesenheit fremdartiger Zellen in Verbindung gebracht werden muss.

Dass die Zellen von H. attenuata in der Lage sind, artfremde Epithelien zu besiedeln, geht aus der Beobachtung hervor, wonach bei att-fu-Kombinationen Zellaustausche in beiden Richtungen erfolgten. Ueber die Gründe der einseitigen Zellwanderung bei att-car-Chimären herrscht noch Unklarheit. Es ist jedoch durchaus denkbar, dass eine eingehende Ueberprüfung der Mechanismen dieser Einwegwanderung zu neuen Erkenntnissen bezüglich der Migration von Zellen bei Hydra führen könnte.

Verglichen mit den Kontrollen, waren die Regenerationszeiten von Tieren nach xenoplastischer Parabiose immer signifikant verzögert (3.1.2.). Die Tatsache, dass die verzögerte Regenerationszeiten nicht positiv mit der Parabiosedauer korreliert waren, lässt auf eine grosse Variabilität der Einwanderungsraten von artfremden Zellen schliessen. Als weiteres Indiz für die Beeinträchtigung der Regenerationsleistungen durch eingewanderte artfremde Zellen sei erwähnt, dass fu-Hälften nach der Parabiose mit i-zellfreien att-Hälften keine verzögerte Regeneration zeigen (Stidwill, unpubl). Die bei einigen fu-Exparabionten gefundenen Polaritätsstörungen (Figuren 7 und 8) während der Regeneration müssen dagegen nicht in einem kausalen Zusammenhang stehen mit den eingewanderten artfremden Zellen, da es in den fu-Kulturen nicht selten spontan zur Bildung von Heteromorphosen kommt.

Die auf histologischen Schnitten (Figuren 10 und 11) und in Mazerationspräparaten (3.1.4.) gefundenen Akkumulationen von i-Zellen und Nematoblasten, in der Nähe der an der zwischenartlichen Grenze entstandenen Verwachsungsnaht, sind auch von Diehl und Burnett (1966) für Artchimären zwischen Hydra pirardi und Hydra pseudoligactis beschrieben worden. Auf Mazerationspräparaten von distalen Chimärenpartnern, nach Parabiose mit radioaktiv markierten proximalen Hälften, konnten die Ansammlungen von i-Zellen aufgrund der fehlenden Markierung eindeutig als art-eigen identifiziert werden. Die Akkumulation von i-Zellen im betreffenden Bereich stellt ein Indiz dafür dar, dass artfremde

Wanderzellen als solche erkannt werden können und der Organismus entsprechend darauf reagiert. Die Existenz eines klassischen Immunsystems, das demjenigen der Vertebraten vergleichbar wäre, wird für Hydra (Kolenkine, 1967; Campbell, 1970) und für Coelenteraten allgemein in Zweifel gezogen (Phillips, 1963; Burnet, 1971; Hildemann und Reddy, 1973; Bang, 1973). Das beschleunigte Eintreten von Depressionen in att-car-Chimären nach wiederholter Parabiose dürfte deshalb kaum auf einer Sensibilisierung der Zellen und Gewebe beruhen, sondern vielmehr darauf zurückzuführen sein, dass durch die wiederholten Kontakte eine vermehrte Anzahl artfremder Zellen in den Partner eindringen, wodurch ein Additionseffekt erzielt wird.

Ein postulierter Erkennungsmechanismus auf dem Niveau der Einzelzellen konnte durch die Analyse von heterospezifischen Mischaggregaten weder bestätigt noch ausgeschlossen werden (3.2.3.). Zwar wurde in Mischaggregaten zwischen att und vir ein spezifisches Segregationsverhalten der Zellen festgestellt, da sich aber einerseits Chimären zwischen diesen beiden Arten als instabil erwiesen hatten und da andererseits nach der Segregation immer nur von der dominierenden Art ein artreines Aggregat gebildet worden war, lässt dies die Vermutung aufkommen, dass in diesem Fall nicht aktive Erkennungsprozesse zwischen den artfremden Zellen wirksam sind, sondern, dass die Zellen der massenmäßig unterlegenen Art passiv, durch die fehlende Ausbildung interspezifischer Cell-junctions, aus dem Mischaggregat ausgeschieden werden. Die Möglichkeit eines durch die Dissoziationsmethode veränderten morphogenetischen Verhaltens von Einzelzellen wäre durchaus denkbar. Bode (1974) hat jedoch nachgewiesen, dass Zellen in homospezifischen Reaggregaten normale Mitoseaktivitäten aufweisen. Bei einer Analyse der anfänglich in Aggregaten vorhandenen Zelltypen (Bode, 1974) wurden vor allem epitheliale Zellen und i-Zellen gefunden. In heterospezifischen Mischaggregaten kommt es also zu intensiven Konfrontationen

zwischen den epithelialen Zellen der beteiligten Arten, während in Transplantationschimären diese Zelltypen nur gerade an der Verwachsungsnäht interspezifische Kontakte aufnehmen, und der Hauptteil von heterospezifischen Interaktionen in Chimären zwischen den i-Zellen (und deren Derivaten) der einen Art und den Geweben der anderen Art stattfindet. Während in der vorliegenden Arbeit gefunden wurde, dass gemischte Aggregate von Einzelzellen von att und fu gegenüber artreinen Aggregaten einen verzögerten Entwicklungsverlauf zeigten (3.2.2.), stellte Noda (1970a) für aggregierte Gewebestücke zweier Hydra-Arten (Hydra magnipapillata und Pelmatohydra robusta) eine, in Bezug auf die artreinen Aggregate von Gewebestücken, intermediäre Entwicklungszeit fest. In den beiden Artkombinationen, welche in heterospezifischen Aggregaten kein Segregationsverhalten zeigten (att-fu und att-car), kollaborierten die artfremden Zellen bei der Wiederherstellung des diploblastematischen Zustandes (3.2.3.). Ob dazu über die Artgrenze reichende Erkennungsmechanismen zwischen Entodermzellen einerseits und Ektodermzellen andererseits nötig sind, oder ob sich diese Tatsache mit der von Steinberg (1963) formulierten "differential adhesion hypothesis" erklären lässt - wie dies Graf und Gierer (1980) und Klimek et al. (1980) für die Segregation von Ento- und Ektoderm in artreinen Aggregaten von Hydra attenuata vermuten - bleibt zum jetzigen Zeitpunkt unklar.

Für Segregationsexperimente in heterospezifischen Reaggregationen von Einzelzellen wurden bei Echinodermen (Giudice und Mutolo, 1970; Spiegel und Spiegel, 1975; McClay et al., 1977; McClay und Chambers, 1978), bei Amphibien (Townes und Holtfreter, 1955; Boucaut, 1974a,b), bei Vögeln und Säugern (Moscona, 1957; Burt und Gierer, 1979) immer embryonale Zellen verwendet. Eine mit der bei Hydra gegebenen Ausgangslage vergleichbare Situation findet man dagegen bei Poriferen, deren Gewebe ebenso wie diejenige der Coelenteraten ein Gemisch von adulten und embryonalen Zellen darstellen. Seit Galtsoff (1925) ein Segregationsverhalten

von Zellen in Gemischen von gattungsfremden Schwammarten nachweisen konnte, ist eine Fülle von Daten über artspezifisches Verhalten in Reaggregaten bei Poriferen publiziert worden (Humphreys, 1963; McClay, 1971; MacLennan, 1974). In neuer Zeit wurden insbesondere artspezifische Aggregationsfaktoren gefunden (Müller und Zahn, 1973; Müller et al., 1978) und das Segregationsverhalten mit Hilfe von Lektinen analysiert (Turner et al., 1974). Bei Coelenteraten sind dagegen bis jetzt weder biochemische noch ultrastrukturelle Untersuchungen zu diesem Fragenkomplex gemacht worden. Inwieweit allenfalls die Mesogloä von Hydra als Träger einer artspezifischen Information wirksam ist, bleibt zu überprüfen. Bühner (pers. Mitteilung) vermutet, aufgrund seiner bei Podocoryne carnea (Anthomedusa) erhaltenen Befunde, die Existenz eines Informationssystems in der extrazellulären Matrix, welches bei intakten Geweben wirksam wäre, mit einer Dissoziation in Einzelzellen jedoch zerstört würde.

Neben den offenen Fragen bezüglich dem Verhalten von Zellen in heterospezifischen Aggregaten herrscht auch Unklarheit über die Natur der in xenoplastischen Transplantationschimären gefundenen Inkompatibilitätsreaktionen. Obwohl mit grosser Wahrscheinlichkeit angenommen werden kann, dass die Unverträglichkeitsreaktionen durch eingewanderte artfremde Zellen hervorgerufen werden, kann über den Mechanismus der Schädigung der Gewebe nur spekuliert werden. Da der grösste Teil der gefundenen artfremden Zelle Nematocyten oder deren Differenzierungsstadien sind, ist eine Vergiftung der Gewebe durch artfremde Nesselgifte nicht ausgeschlossen. Mercolli (1977) äusserte die Vermutung, dass eingewanderte Zellen erst während ihrer Differenzierung artspezifische Membraneigenschaften ausbilden, sodass sie im embryonalen Zustand noch nicht als fremd erkannt werden können. Da genaue Zellzyklen erst für Hydra attenuata bekannt sind (David und Campbell, 1972; Campbell und David, 1974), ist als Grund für die Unverträglichkeitsreaktionen auch eine mangelnde Synchronisation

der Zellzyklen der verschiedenen miteinander konfrontierten Hydra-Arten denkbar. Dafür spricht auch die in att-fu-Transplantationschimären beobachtete, ungleiche Verschiebung der Verwachsungsnaht im Ento- und im Ektoderm (3.1.1. und 3.1.5.). Für intakte Polypen von Hydra ist bekannt, dass die ento- und ektodermalen Gewebe sich mit ungleicher Geschwindigkeit proximalwärts bewegen (Burnett, 1961). Die Tatsache, dass in att-fu-Chimären, unabhängig von der räumlichen Konstellation der beiden Arten in der Chimäre zueinander, im Verwachsungsbereich stets das Ektoderm von att vom Entoderm von fu unterlagert ist, lässt sich jedoch nur erklären, wenn man für die beiden Arten ungleiche Zellzyklen annimmt, die zur Folge hätten, dass die Bewegungsgeschwindigkeiten der artfremden Gewebe sich durch Druck (oder Zug) gegenseitig beeinflussen würden.

5.0.0. Z U S A M M E N F A S S U N G

1. Interaktionen zwischen artfremden Zellen und Geweben, die in xenoplastischen Transplantationschimären einerseits und in heterospezifischen Reaggregaten aus Einzelzellen andererseits auftreten, wurden bei vier Vertretern der Gattung Hydra, H. attenuata (att), H. fusca (fu), H. viridis (vir) und H. carnea (car), untersucht.
2. In xenoplastischen Transplantationschimären kam es zu Unverträglichkeitsreaktionen, welche von der gegenseitigen Abstoßung der beiden Parabiosepartner über verschiedene Stufen von Depressionssymptomen bis zur Desintegration der Gewebe des einen Partners führten.
3. Die Regenerationsleistungen von intakten Artchimären und von Exparabionten wurden einer Prüfung unterzogen. Während die Fähigkeit zur Regeneration von apikalen Organen (Tentakel und Hypostom) nach kurzer xenoplastischer Parabiosedauer uneingeschränkt blieb, war das Regenerationsgeschehen gegenüber heteroplastischen Kontrollkombinaten signifikant verlangsamt.
4. Eine nochmalige xenoplastische Transplantation von Exparabionten, die zuvor nach 4-tägiger Parabiose von ihren Partnern künstlich getrennt worden waren, hatte ein beschleunigtes Eintreten von Depressionssymptomen zur Folge.
5. Bei der Untersuchung des Austausches von Wanderzellen zwischen Parabiosepartnern in Artchimären wurde in der Artkombination att-fu ein Austausch in beiden Richtungen festgestellt. Zwischen att und car kam es dagegen nur in einer Richtung, von car zu att, zu einer nennenswerten Ueberwanderung von Zellen. Zwischen att und vir konnte kein Zellaustausch nachgewiesen werden. Diese Befunde stehen in einem direkten Zusammenhang

mit der Häufigkeit des Auftretens von Depressionerscheinungen, die eine Folge der spontan entstandenen Mischung von fremd-artigen Zellen zu sein scheinen.

6. Die Gewebe der Artchimären wurden lichtmikroskopisch untersucht. Bei allen Kombinatorien war die Verwachsungsnaht im histologischen Bild gut sichtbar. Bei Artchimären zwischen att und vir sowie att und fu konnte im Laufe der Parabiose eine Vertikalverschiebung der ento- und ektodermalen Verwachsungsgrenzen gegeneinander festgestellt werden. In att-car-Chimären wurden bei att-Partnern strukturelle und morphologische Veränderungen der Zellen festgestellt.
7. Einzelzellen der Arten att und fu kollaborierten nach der Reaggregation in heterospezifischen Zellgemischen bei der Rekonstitution des diploblastematischen Zustandes. Gegenüber homospezifischen Aggregaten ist dieser Entwicklungsprozess jedoch verlangsamt.
8. Durch Markierung mit radioaktiven Nukleotiden und Fluorochromen der einen Art konnte in att-vir-Mischaggregaten ein artspezifisches Segregationsverhalten der Zellen nachgewiesen werden. Eine vergleichbare Segregation erfolgte bei att-fu und att-car-Aggregaten nicht.
9. Die Resultate dieser Untersuchung werden unter anderem im Zusammenhang mit evolutionistisch auf niedrigerer Stufe stehenden Erkennungsmechanismen diskutiert und die Befunde der Segregationsexperimente mit ähnlichen Versuchen in anderen systematischen Gruppen verglichen.

6.0.0. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- Artmann, G. (1969): Unverträglichkeitsreaktionen während und nach der Parabiöse zwischen Hydra attenuata und Hydra fusca. Diplomarbeit, Zool.Inst.Univ.Zürich, unpubl.
- Bang, F.B. (1973): Immune reactions among marine and other invertebrates. Bioscience 23 (10), 584-589.
- Bibb, C. und R.D. Campbell (1973): Tissue healing and septate desmosome formation in Hydra. Tissue Cell 5 (1), 23-35.
- Bibb, C. und R.D. Campbell (1973): Cell affinity determining heterospecific graft intolerance in Hydra. Tissue Cell 5(2), 199-208.
- Bode, H.R. (1974): Activity of hydra cells in vitro and in regenerating cell reaggregates. Amer.Zool.14, 543-550.
- Boucaut, J.C. (1974a): Etude autoradiographique de la distribution de cellules embryonnaires isolées, transplantées dans le blastocèle chez Pleurodeles waltlii Michah (Amphibien, Urodèle). Ann.Embryol.Morphog. 7, 7-50.
- Boucaut, J.C. (1974b): Chimères intergénériques entre Pleurodeles waltlii Michah et Ambystoma mexicanum Shaw (Amphibien, Urodèles). Ann.Embryol.Morphog. 7, 119-139.
- Bührer, M. und P. Tardent (1980): Compatibilities and incompatibilities in Podocoryne carnea (Anthomedusae). In: Developmental and Cellular Biology of Coelenterates (eds. P.Tardent und R.Tardent) Elsevier/North-Holland Biomed.Press, 477-480.
- Burnet, F.M. (1971): "Self-recognition" in colonial marine forms and flowering plants in relation to the evolution of Immunity. Nature 232, 2371.
- Burnett, A.L. (1960): The nematocysts of Hydra. II. The maturation of nematocysts in hydra. Ann.Soc.Roy.Zool.Belg. 90, 269-280.
- Burnett, A.L. (1961): The growth process in Hydra. J.exp.Zool. 146, 21-84.
- Burnett, A.L. (1973): Biology of Hydra. Acad.Press Inc., London/New York.

- Burt, R. und A. Gierer (1979): Age specific cell sorting within aggregates of chick neural retina cells. W.Roux'Arch. 187, 367-373.
- Campbell, R.D. (1965): Cell proliferation in Hydra: An autoradiographic approach. Science 148, 1232-1233.
- Campbell, R.D. (1976): Elimination of hydra interstitial and nerve cells by means of colchicine. J.Cell.Sci. 21, 1-13.
- Campbell, R.D. und C.Bibb (1970): Transplantation in Coelenterates. Transpl.Proc. II, No. 2, 202-211.
- Campbell, R.D. und C.N. David (1974): Cell cycle kinetics and development of Hydra attenuata. II. Interstitial cells. J.Cell.Sci. 16, 349-358.
- David, C.N. (1973): A quantitative method for maceration of hydra tissue. W.Roux'Arch. 171 (4), 259-268.
- David, C.N. und R.D. Campbell (1972): Cell cycle kinetics and development of Hydra attenuata. I. Epithelial cells. J.Cell.Sci. 11 (2), 557-568.
- David, C.N. und A. Gierer (1974): Cell cycle kinetics and development of Hydra attenuata. III. Nerve and nematocyte differentiation. J.Cell.Sci. 16 (2), 359-375.
- Diehl, F.A. und A.L. Burnett (1966): The role of interstitial cells in the maintenance of Hydra. IV. Migration of interstitial cells in homografts and heterografts. J.exp.Zool. 163 (2), 125-139.
- Ewer, R.F. (1948): A review of the Hydridae and two new species of Hydra from Natal. Proc.Zool.Soc.London 118, 226-244.
- Frigg, M. (1970): Vorkommen und Bedeutung der Carotinoide bei Hydra. Z.vergl.Physiol. 69, 186-224.
- Galtsoff, P.S. (1925): Regeneration after dissociation: An experimental study on sponges. J.exp.Zool. 42, 223-255.
- Gierer, A., S. Berking, H. Bode, C.N. David, K. Flick, G. Hansmann, H. Schaller und E. Trenkner (1972): Regeneration of Hydra from reaggregated cells. Nat.New.Biol. 239 (91), 98-101.
- Giudice, G. und V. Mutolo (1970): Reaggregation of dissociated cells of sea urchin embryos. Advan.Morphogenesis 8, 115-158.

- Graf, L. und A. Gierer (1980): Size, shape and orientation of cells in budding hydra and regulation of regeneration in cell aggregates. W.Roux'Arch. 188, 141-151.
- Hauenschild, C. (1954): Genetische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen über Intersexualität und Gewebeverträglichkeit bei Hydractinia echinata Flem. (Hydrozoa, Bougainvill.). W.Roux'Arch. 147, 1-41.
- Hauenschild, C. (1955): Ueber die Vererbung einer Gewebeverträglichkeits-Eigenschaft bei Hydractinia echinata. Z.Naturforsch. 11 (6) H.3, 1956.
- Herlands, R.L. und H.R. Bode (1974): The influence of tissue polarity on nematocyte migration in Hydra attenuata. Develop.Biol. 40 (2), 323-339
- Hicklin, J. und L. Wolpert (1973): Positional information and pattern regulation in hydra: Formation of the foot end. J.Embryol.Exp.Morph. 30 (3), 727-740.
- Hildemann, W.H. und A.L. Reddy (1973): Phylogeny of immune responsiveness: Marine invertebrates. Fed.Proc. 32 (12), 2188-2194.
- Honegger, T. (1978): Hydrozoa. In: Limnofauna Europaea (ed. J.Illies). G.Fischer Verlag, Stuttgart/New York, 3-4.
- Humphreys, T. (1963): Chemical dissolution and in vitro reconstruction of sponge cell adhesions. 1. Isolation and functional demonstration of the components involved. Develop.Biol. 8, 27-47.
- Hyman, L.H. (1940): The Invertebrates: Protozoa through Ctenophora. McGraw Hill Book Co.Inc., New York/London.
- Ivker, F.B. (1972): A hierarchy of histoincompatibility in Hydractinia echinata. Biol.Bull. 143, 162-174.
- Klimek, F., L. Graf, G. Hansmann und A. Gierer (1980): Cell interaction and form in regenerating and budding hydra. In: Developmental and Cellular Biology of Coelenterates (eds. P.Tardent und R.Tardent) Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 441-446.
- Kolenkine, X. (1967): Caractéristiques antigéniques et histocompatibilité chez trois espèces d'Hydres d'eau douce: Pelmatohydra oligactis, Hydra attenuata et Hydra vulgaris. C.R.Séanc.Acad.Paris 265, 473-476.

- Lenhoff, H.M. und R.D. Brown (1970): Mass culture of hydra: An improved method and its application to other aquatic invertebrates. Lab.Anim. 4, 139-154.
- Lenhoff, H.M., L. Muscatine und L.V. David (1971): Experimental Coelenterate Biology. Univ.Hawaii Press, Honolulu.
- Lentz, T.L. (1966): The Cell Biology of Hydra. North Holland Publ. Co., Amsterdam.
- Loomis, W.F. und H.M. Lenhoff (1956): Growth and sexual differentiation of Hydra in mass culture. J.exp.Zool. 132, 555-574.
- MacLennan, A.P. (1974): The chemical bases of taxon-specific cellular reaggregation and "self"- "not-self" recognition in sponges. Arch.Biol. 85, 53-90.
- Marcum, B.A. und R.D. Campbell (1978): Development of Hydra lacking nerve and interstitial cells. J.Cell.Sci. 29, 17-33.
- Marcum, B.A. und R.D. Campbell (1978): Developmental roles of epithelial and interstitial cell lineages in Hydra: Analysis of chimeras. J.Cell.Sci. 32, 233-247.
- McClay, D.R. (1971): An autoradiographic analysis of the species specificity during sponge cell reaggregation. Biol.Bull. 141, 313-327.
- McClay, D.R., A.F. Chambers und R.H. Warren (1977): Specificity of cell-cell interactions in sea urchin embryos. Develop. Biol. 56, 343-355.
- McClay, D.R. und A.F. Chambers (1978): Identification of four classes of cell surface antigens appearing at gastrulation in sea urchin embryos. Develop.Biol. 63, 179-186.
- Mercolli, C. (1976): Unverträglichkeitsreaktionen zwischen den beiden Arten Hydra attenuata und Hydra fusca infolge Parabiose. Semesterarbeit, Zool.Inst.Univ.Zürich, unpubl.
- Mercolli, C. (1977): Zellwanderungen in xenoplastischen Chimären von Hydra fusca L. und Hydra attenuata Pall. Diplomarbeit, Zool.Inst.Univ.Zürich, unpubl.
- Moscona, A.A. (1957): The development in vitro of chimeric aggregates of dissociated embryonic chick and mouse cells. Proc.Nat.Acad.Sci.U.S.A. 43, 184-194.
- Mulherkar, L. und A.M. Therwath (1978): Induction of hypostome and tentacles in the supra basal region of Pelmatohydra oligactis by cysteine hydrochloride. Indian J.Exp.Biol. 16 (12), 1253-1255.

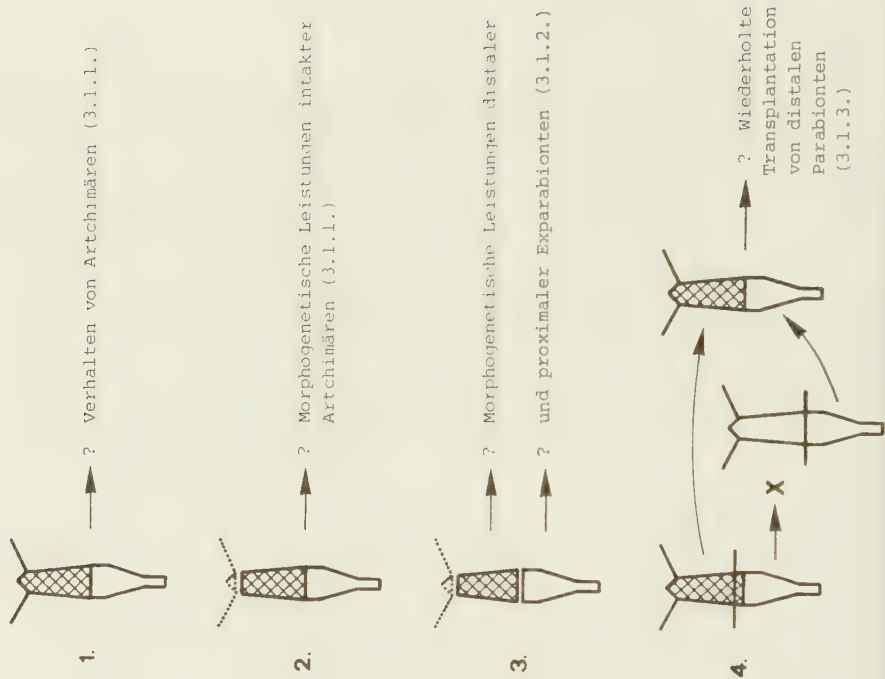
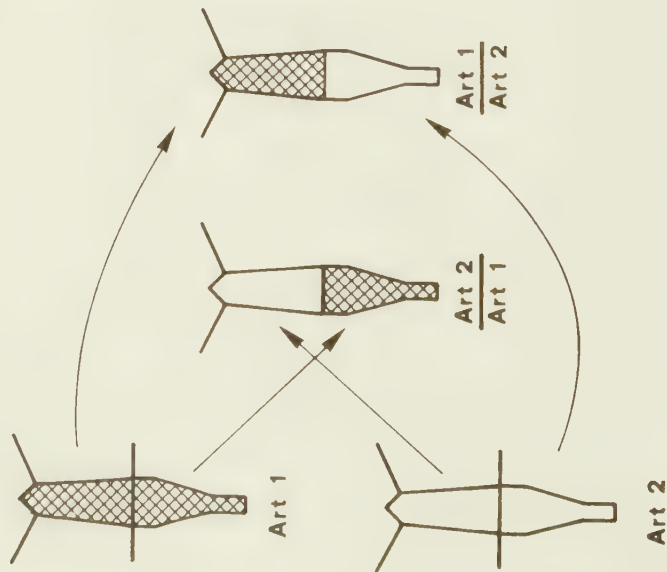
- Müller, W.E.G. und R.K. Zahn (1973): Purification and characterization of a species-specific aggregation factor in sponges. Exp.Cell.Res. 80, 95-104.
- Müller, W.E.G., R.K. Zahn, B. Kurelec und I. Müller (1978): Species-specific aggregation factor in sponges. VIII Nature and alteration of cell surface charge. W.Roux'Arch. 184, 29-40.
- Noda, K. (1970a): The fate of aggregates formed by two species of Hydra (H. magnipapillata and P. robusta). J.Fac.Sci.Hokkaido Univ.Ser.VI, 17 (3), 432-439.
- Noda, K. (1970b): On the incompatibility of two species of Hydra (H. magnipapillata and P. robusta) in mixed culture. J.Fac.Sci.Hokkaido Univ.Ser.VI, 17 (3), 440-445.
- Otto, J.J. und R.D. Campbell (1977): Tissue economics of hydra: Regulation of cell cycle, animal size and development by controlled feeding rates. J.Cell.Sci. 28, 117-132.
- Phillips, J.H. (1963): Immune mechanism in the phylum Coelenterata. In: The Lower Metazoa. Comparative Biology and Physiology. (ed. E.C.Dougherty). Univ.California Press, Berkeley, Calif., 425-431.
- Shostak, S. (1977): Regeneration in Hydra viridis with multiple-gastric region grafts: Reversal of the middle piece. J.Morphol. 154 (1), 1-18.
- Spiegel, M. und E.S. Spiegel (1975): The reaggregation of dissociated embryonic sea urchin cells. Amer.Zool. 15, 583-606.
- Spurr, A.R. (1969): A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J.Ultrastruct.Res. 26, 31.
- Steinberg, M.S. (1963): Reconstruction of tissues by dissociated cells. Science 141 No.3579, 401-408.
- Sugiyama, T. und T. Fujisawa (1977): Genetic analysis of developmental mechanisms in hydra. III. Characterization of a regeneration deficient strain. J.Embryol.exp.Morph. 42, 65-77.
- Sugiyama, T. und T. Fujisawa (1977): Genetic analysis of developmental mechanisms in hydra. I. Sexual reproduction of H. magnipapillata and isolation of mutants. Develop.Growth Differ. 19 (3), pp. 187.

- Sugiyama, T. und T. Fujiwasa (1978): Genetic analysis of developmental mechanisms in hydra. II. Isolation and characterization of an interstitial cell-deficient strain. J.Cell.Sci. 29, 35-52.
- Sugiyama, T. und T. Fujisawa (1978): Genetic analysis of developmental mechanisms in hydra. V. Cell lineage and development of chimera hydra. J.Cell.Sci. 32, 233-247.
- Tardent, P. (1966a): Zur Sexualbiologie von Hydra attenuata (PALL.). Rev.suisse Zool. 73, 357-381.
- Tardent, P. (1966b): Experimente zur Frage der Geschlechtsbestimmung bei Hydra attenuata (PALL.). Rev.suisse Zool. 73, 481-492.
- Tardent, P. (1968): Experiments about sex determination in Hydra attenuata (PALL.). Develop.Biol. 17, 483-511.
- Tardent, P. (1978): Morphogenese der Tiere: Coelenterata, Cnidaria. VEB Gustav Fischer Verlag Jena, 71-415.
- Tardent, P. und U. Morgenthaler (1966): Autoradiographische Untersuchungen zum Problem der Zellwanderung bei Hydra attenuata (PALL.). Rev.suisse Zool. 73, 483-511.
- Theodor, J.L. (1970): Distinction between "self" and "not self" in lower Invertebrates. Nature 227, 1970.
- Toth, S.E. (1967): Tissue compatibility in regenerating explants from the colonial marine hydroid Hydractinia echinata. J.Cell.Physiol. 69 (2), 125-131.
- Townes, P.L. und J. Holtfreter (1955): Directed movements and selective adhesion of embryonic amphibian cells. J.exp. Zool. 128, 53-120.
- Trembley, A. (1744): Mémoires pour servir à l'histoire naturelle d'un genre de polype d'eau douce à bras en forme de cornes. Verbeek, Leiden.
- Turner, R.S., G. Weinbaum, W.J. Kuhns und M.M. Burger (1974): The use of Lectins in the analysis of sponge reaggregation. Arch.Biol. 85, 35-51.
- Van de Vyver, G. (1975): Phenomena of cellular recognition in sponges. Curr.topics in Develop.Biol. 10, 123-140.

- Wood, R. (1979): The fine structure of the hypostome and mouth of Hydra. I Scanning electron microscopy. Cell Tissue Res. 199, 307-317.
- Yaross, M.S. und H.R. Bode (1978): Regulation of interstitial cell differentiation in Hydra attenuata. III. Effects of i-cell and nerve cell densities. J.Cell.Sci. 34, 1-26.
- Yaross, M.S. und H.R. Bode (1978): Regulation of i-cell differentiation in Hydra attenuata. IV. Nerve cell commitment in head regeneration is position-dependent. J.Cell.Sci. 34, 27-38.
- Yaross, M.S. und H.R. Bode (1978): Regulation of the i-cell differentiation in Hydra attenuata. J.Cell.Sci. 34, 39-52.

7.0.0. F I G U R E N U N D T A B E L L E N

FIGUR 1 : Schema der Versuchsanordnung, die der Herstellung von xenoplastischen Transplantationschimären zugrunde liegt (2.2.1.)



1. → ? Verhalten von Artchimären (3.1.1.)

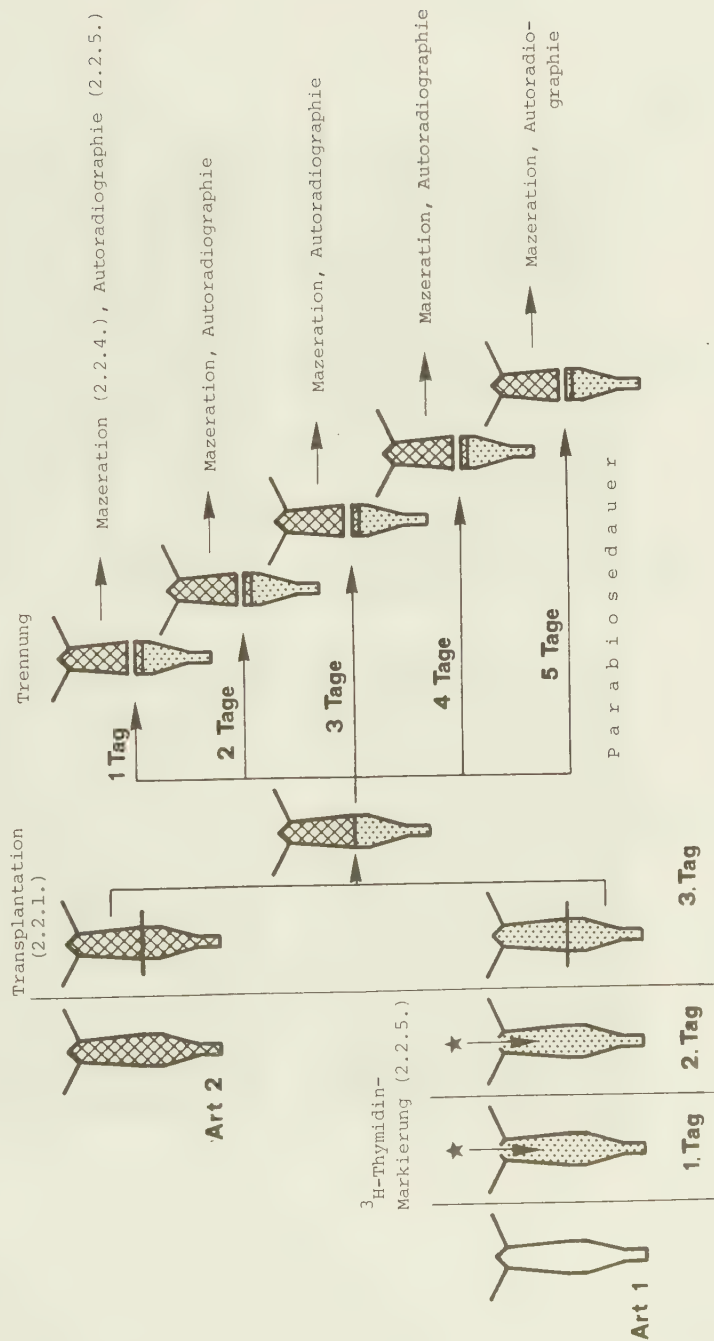
2. → ? Morphogenetische Leistungen intakter Artchimären (3.1.1.)

3. → ? Morphogenetische Leistungen distaler

→ ? und proximaler Exparabionten (3.1.2.)

4. → ? Wiederholte Transplantation von distalen Parabionten (3.1.3.)

FIGUR 2 : Schema der Versuchsanordnung zur Ermittlung des Austausches von Zellen zwischen Parabiosepartnern in Artchimären (3.1.4.)

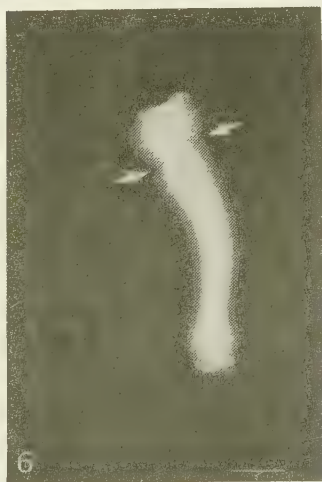
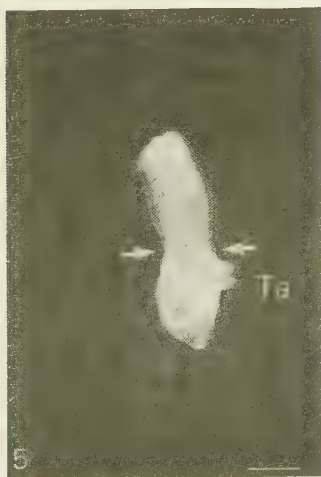


FIGUR 3 : Xenoplastische, aus einer distalen Hälfte von att und einer proximalen Hälfte von fu hergestellten, Chimäre (9 Tage nach Transplantation). Die Pfeile bezeichnen die noch deutlich sichtbare Verwachsungsgrenze (H = Hypostom, T = Tentakel, F = Fuss Scheibe).
(Länge des Balkens = 1 mm)

FIGUR 4 : Xenoplastische Chimäre mit att in distaler und fu in proximaler Position, die sich 8 Tage nach Transplantation im Depressionszustand D_1 befindet. Die Verwachsungsnaht ist durch Pfeile gekennzeichnet.
(Länge des Balkens = 1 mm)

FIGUR 5 : Xenoplastische Chimäre (fu distal, att proximal, 8 Tage nach Transplantation) im Depressionszustand D_2 . Die Pfeile bezeichnen die Verwachsungsnaht.
(Ta = regenerierte Tentakelanlagen des proximalen Parabiosepartners).
(Länge des Balkens = 1 mm)

FIGUR 6 : Chimäre mit att in distaler und car in proximaler Position, 5 Tage nach Transplantation. att befindet sich im Uebergang zwischen den Depressionszuständen D_2 und D_3 . Der proximale car-Partner ist normal. Die Pfeile weisen auf die Grenze der verschiedenartigen Gewebe hin.
(Länge des Balkens = 1 mm)

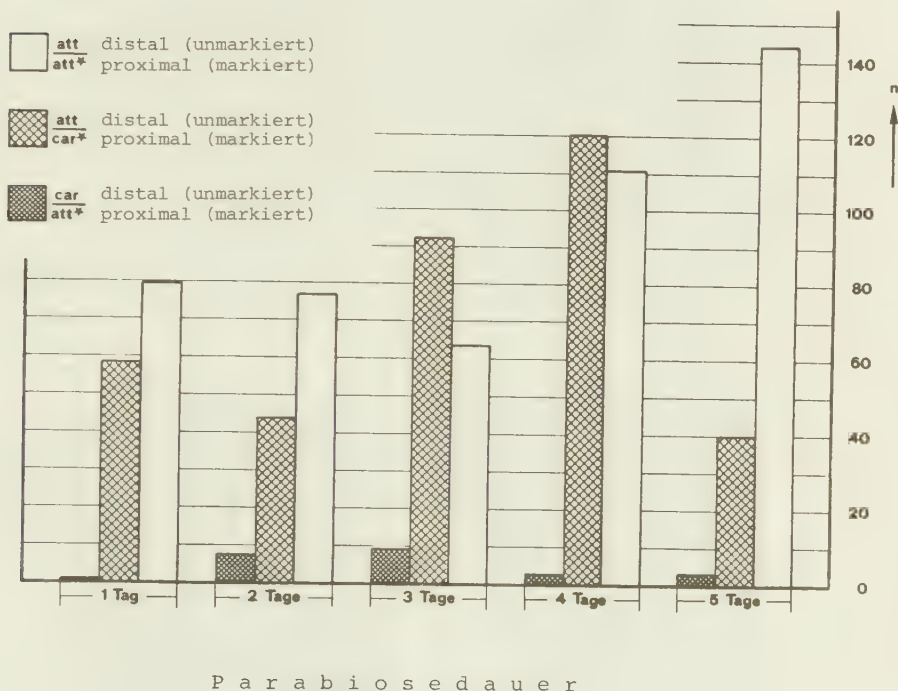


FIGUREN 7 UND 8 : Polaritätsstörungen, die bei distalen
fu-Exparabionten (Parabiosedauer 3 Tage) mit proximalen
att-Hälften auftraten. Die Aufnahmen wurden 10 Tage nach
deren künstlicher Trennung gemacht (s = neu induzierte,
sekundäre Rumpfsäule).
(Länge des Balkens = 1 mm)



FIGUR 9 : Proximodistale Zellwanderung bei xenoplastischen att-car-Transplantationschimären und heteroplastischen att-att-Kontrollkombinaten (3.1.4.)

Gesamtzahl (n) der radioaktiv markierten Zellen (i-Zellen, Nematocyten, Nematoblasten, Nervenzellen, nicht identifizierbare Zellen; siehe Tabelle 5), die in distalen unmarkierten Hälften von att-car-Artchimären und att-att-Kombinaten mit radioaktiv markierten proximalen Hälften nach unterschiedlicher Parabiosedauer nachgewiesen wurden.

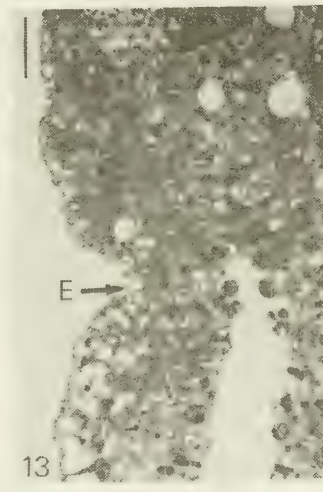
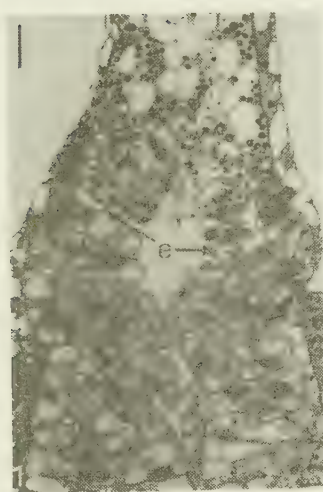
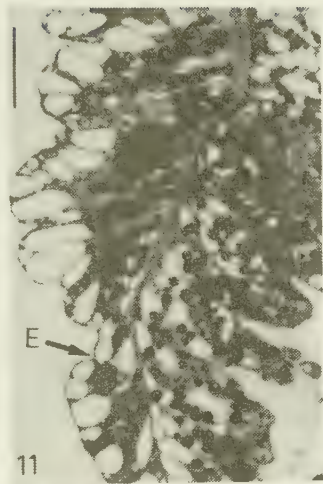
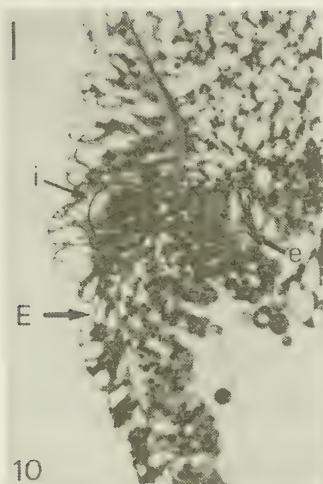


FIGUR 10 : Histologischer Längsschnitt durch die Verwachsungsgrenze einer att-fu-Chimäre mit att in distaler (oben) und fu in proximaler (unten) Position 4 Tage nach Transplantation. (E = Grenze der verschiedenartigen Gewebe im Ektoderm, e = Verwachsungsnaht im Entoderm, i = Ansammlung von i-Zellen im Ektoderm von att).
(Länge des Balkens = 20 µm)

FIGUR 11 : Vergrößerter Ausschnitt von Figur 10, mit der Anhäufung von i-Zellen im Ektoderm von att nahe der Verwachsungsnaht (E = ektodermale Verwachsungsnaht).
(Länge des Balkens = 20 µm)

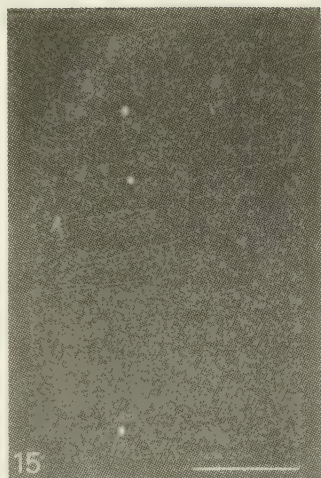
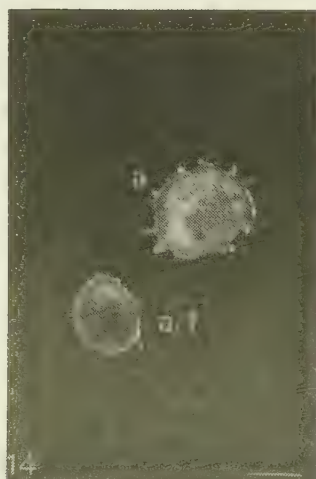
FIGUR 12 : Längsschnitt durch die Verwachsungsstelle einer att-vir-Chimäre (att proximal, vir distal) nach 4-stündiger Parabiose. (E = Art-Grenze im Ektoderm mit freiliegender Mesogloia, e = entodermale Art-Grenze).
(Länge des Balkens = 20 µm)

FIGUR 13 : Längsschnitt einer att-car-Chimäre (att distal, car proximal) nach 3-tägiger Parabiose. Die att-Zellen im Ektoderm sind nicht vakuolisiert (E = Verwachsungsnaht im Ektoderm).
(Länge des Balkens = 20 µm)



FIGUR 14 : Homospezifisches att-Reaggregat (a) mit bereits deutlich sichtbaren Tentakelknospen und (a/f) heterospezifisches, aus gleichen Teilen (1:1) hergestelltes, Mischaggregat att:fu. (48 Stunden nach der Zentrifugation. (Länge des Balkens = 1 mm)

FIGUR 15 : Fluoreszenzphotographie eines Teiles eines heterospezifischen Mischaggregates (att:fu = 1:1) 9,5 Stunden nach erfolgter Reaggregation. Die fu-Zellen waren ungefärbt, die att-Zellen DAPI-markiert. Die Zellen der beiden Arten sind im Aggregat homogen verteilt. (Länge des Balkens = 0,1 mm)



FIGUR 16 : Mischaggregat der Arten att und vir (Mischverhältnis = 1:1) 5 Stunden nach der Reaggregation. Die entodermalen Zellen von vir (v), welche einzelne Zellhaufen bilden, sind dank der symbiontischen Algen von den helleren att-Zellen gut zu unterscheiden.
(Länge des Balkens = 0,5 mm)

FIGUR 17 : Fluoreszenzaufnahme eines Mischaggregates von att und vir (att:vir = 1:2) 11,5 Stunden nach der Reaggregation. Die segregierten att-Zellen waren vor der Reaggregation mit DAPI gefärbt worden und erscheinen auf der Photographie hell, die unbehandelten vir-Zellen sind dunkel. Die Pfeile bezeichnen den Rand des Aggregates.
(Länge des Balkens = 0,1 mm)

FIGUR 18 : Fluoreszenzphotographie eines att-vir-Mischaggregates (att:vir = 1:2) 23 Stunden nach Reaggregation. Die DAPI-markierten att-Zellen (hell) werden aus dem Aggregat ausgestossen.
(Länge des Balkens = 0,2 mm)

FIGUR 19 : Durchlichtaufnahme des gleichen Objektes wie in Figur 18, die Umrisse des Aggregates zeigend.
(Länge des Balkens = 0,2 mm).

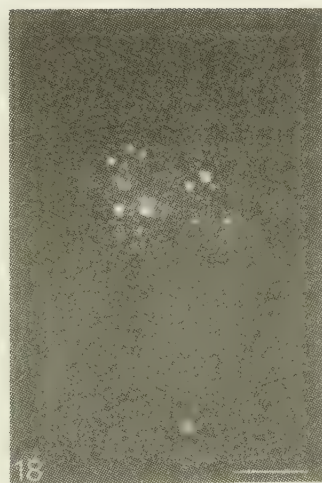


TABELLE 1 : Postoperativer Zeitpunkt der spontanen Trennung von att-fu-, bzw. fu-att-Chimären

Kombination <u>distal</u> <u>proximal</u>	(n)	1.-5.Tag	6.-10.Tag	11.-20.Tag	21.-30.Tag	keine Trennung innerhalb von 30 Tagen
<u>att</u> <u>fu</u>	(150)	8% (12)	4,7% (7)	11,3% (17)	14% (21)	62% (93)
<u>fu</u> <u>att</u>	(160)	5,6% (9)	6,9% (11)	15% (24)	11,9% (19)	60,6% (97)

TABELLE 2 : Häufigkeiten des Auftretens der Depressionssymptome D₁, D₂ und D₃ (bzw. d₃)
(vgl. Figuren 4-6) in Artchimären der Kombination att-vir, att-fu und att-car

Artkombination <u>distal</u> <u>proximal</u>	(n)	Trennung 0-24 Stunden	Depressionssymptome				kein Effekt	
			D ₁	D ₂	D ₃	d ₃	proximal	distal
<u>att</u> <u>vir</u>	(20)	100% (20)					100% (20)	100% (20)
<u>vir</u> <u>att</u>	(20)	100% (20)					100% (20)	100% (20)
<u>att</u> <u>fu</u>	(150)		12,7% (17)	10,7% (16)	5,3% (8)	12% (18)	88% (132)	71,3% (107)
<u>fu</u> <u>att</u>	(160)		17,5% (28)	14,35% (23)	9,4% (15)	6,9% (11)	93,1% (149)	58,75% (94)
<u>att</u> <u>car</u>	(30)				100% (30)		100% (30)	
<u>car</u> <u>att</u>	(29)		6,9% (2)			100% (29)		93,1% (27)
<u>att</u> (Kontrolle) <u>att</u>	(55)						100% (55)	100% (55)

TABELLE 3 : Regenerationszeiten (in Tagen) intakter att-fu-Chimären, verglichen mit heteroplastischen Kontrollchimären (att-att, bzw. fu-fu)

Amputation der distalen Strukturen 2 Tage nach erfolgter Transplantation.
 Regenerationszeit = Zeitspanne (in Tagen) von der Amputation bis zum Erscheinen von Tentakelanlagen. Vergleich der mittleren Regenerationszeiten ($\bar{x}$) anhand des t-Testes (s = Standardabweichung, P = Irrtumswahrscheinlichkeit)

Kombination <u>distal</u> <u>proximal</u>	n	$\bar{x}$ (Tage)	s	t	P
<u>att</u> <u>fu</u>	7	4,0	0,5774	8,5079	0,001
<u>att</u> (Kontrolle) <u>att</u>	14	2,9286	0,8287		
<u>fu</u> <u>att</u>	7	2,1667	0,0832	1,7976	0,1
<u>fu</u> (Kontrolle) <u>fu</u>	9	1,8889	0,3333		

TABELLE 4 : Regenerationsleistungen der Exparabionten von att-fu-Artchimären nach unterschiedlicher Parabiosedauer und künstlicher Trennung der Partner, verglichen mit heteroplastischen Kontrollkombinaten (att-att, fu-fu)

a) Regenerationsleistungen distaler Exparabionten bezüglich der distalen Strukturen (Tentakel und Hypostom). Amputation derselben 24 Stunden nach der Trennung (Figur 1).

Regenerationszeit = Zeitspanne (in Tagen) von der Amputation bis zum Erscheinen von Tentakelanlagen. Vergleich der mittleren Regenerationszeiten ($\bar{x}$) anhand des t-Testes (s = Standardabweichung, P = Irrtumswahrscheinlichkeit).

Kombination distal → Expara. proximal	Parabiosedauer (Tage)	n	$\bar{x}$ (Tage)	s	t	P
<u>att</u> → <u>att</u> <u>fu</u>	2	11	3,2727	1,0090	5,8844	0,001
<u>att</u> → <u>att</u> <u>att</u>	2	10	2,5000	0,7071		
<u>att</u> → <u>att</u> <u>fu</u>	3	13	2,7692	1,4233	6,6999	0,001
<u>att</u> → <u>att</u> <u>att</u>	3	12	1,9167	0,9003		
<u>att</u> → <u>att</u> <u>fu</u>	4	3	4,333	0,5774	8,8657	0,001
<u>att</u> → <u>att</u> <u>att</u>	4	8	2,2150	0,6409		
<u>fu</u> → <u>fu</u> <u>att</u>	2	21	4,0952	2,8793	16,3488	0,001
<u>fu</u> → <u>fu</u> <u>fu</u>	2	9	1,8889	0,3333		
<u>fu</u> → <u>fu</u> <u>att</u>	3	3	2,6667	1,1547	5,9250	0,001
<u>fu</u> → <u>fu</u> <u>fu</u>	3	8	1,8750	0,6409		

TABELLE 4 : Fortsetzung

b) Regenerationsleistungen proximaler Exparabionten bezüglich der distalen Strukturen (Tentakel und Hypostom) (Figur 1).

Regenerationszeit = Zeitspanne (in Tagen) von der künstlichen Trennung der Parabiosepartner bis zum Erscheinen von Tentakelanlagen. Vergleich der mittleren Regenerationszeiten ($\bar{x}$) anhand des t-Testes.
(s = Standardabweichung, P = Irrtumswahrscheinlichkeit).

Kombination distal proximal → Expara.	Parabiosedauer (Tage)	n	$\bar{x}$ (Tage)	s	t	P
<u>fu</u> att → att	2	16	3,4375	1,6721	9,9066	0,001
<u>att</u> att → att	2	10	2,2000	0,6325		
<u>fu</u> att → att	3	2	3,5000	0,7071	4,1837	0,01
<u>att</u> att → att	3	9	2,2222	0,6667		
<u>att</u> fu → fu	2	20	4,3500	3,0655	11,5297	0,001
<u>fu</u> fu → fu	2	7	2,4286	0,5345		
<u>att</u> fu → fu	3	10	3,0000	3,1623	4,0270	0,001
<u>fu</u> fu → fu	3	12	2,2500	0,6216		

TABELLE 5 : Proximodistale Wanderung von Zellen bei xenoplastischen att-car-Transplantationschimären und heteroplastischen att-att-Kontrollkombinaten (Figur 2)

Die Werte entsprechen der relativen Zahl von radioaktiv markierten Zellen der einen Art, welche im ursprünglich unmarkierten Teil der anderen Art zu verschiedenen Zeiten nach Herstellung der Chimäre gefunden wurden (siehe 3.1.4.).

(Für jede Parabiosedauer wurden in den verschiedenen Kombinationen die markierten Zellen pro 6-8000 unmarkierte Epithelzellen ausgezählt. In der Tabelle sind die Zellzahlen zu Vergleichszwecken auf je 1000 Epithelzellen bezogen).

Kombination (*radioaktiv markierter Teil der Chimäre)	Parabiose- dauer	i-Zellen	Nemato- cyten	Nemato- blasten	Nerven- zellen	nicht identif. Zellen	TOTAL
<u>car</u> (distal) <u>att*</u> (proximal)	1 Tag	-	-	0,5	0,375	-	0,875
	2 Tage	0,75	1,25	5,37	0,375	-	7,75
	3 Tage	1,5	0,16	6,6	1,16	-	9,5
	4 Tage	0,5	-	2,375	0,125	-	3,0
	5 Tage	0,5	1,0	1,875	0,25	-	3,625
<u>att</u> (distal) <u>car*</u> (proximal)	1 Tag	0,625	6,5	50,4	0,8	-	58,5
	2 Tage	1,3	17,6	21,8	2,5	0,6	44,0
	3 Tage	8,0	28,5	53,0	3,0	-	92,5
	4 Tage	12,1	52,0	53,0	2,6	0,6	120,5
	5 Tage	5,33	10,0	22,66	2,0	-	40,0
<u>att</u> (distal) <u>att*</u> (proximal)	1 Tag	9,6	2,6	57,0	10,3	-	79,6
	2 Tage	7,0	15,5	52,0	2,5	-	77,0
	3 Tage	5,75	11,75	45,5	0,75	-	63,75
	4 Tage	3,5	48,0	56,5	3,0	-	111,0
	5 Tage	2,0	63,75	77,75	0,75	-	144,25

TABELLE 6 : Zeitlicher Ablauf der Entwicklung von heterospezifischen att-fu-Mischaggregaten mit verschiedenen Mischverhältnissen und von homospezifischen Aggregaten der Arten att und fu (vgl. 3.2.1. und 3.2.2.)

Entwicklungszeiten (in Stunden) bis zum Erreichen der verschiedenen Stadien nach der Reaggregation der Einzelzellen.

Mischverhältnis att : fu	Bildung einer glatten Oberfläche	Neusynthese der Mesogläa	Erscheinen von Tenta- kelanlagen	Hypostom- bildung
1 : 0	6	10-12	40-45	60-70
0 : 1	6	10-12	40-45	60-70
10 : 1	6-7	11-12	40-45	60-70
1 : 10	6-7	11-12	42-46	62-72
4 : 1	8-10	15-17	48-52	66-76
1 : 4	9-10	14-16	48-52	66-76
2 : 1	9-11	18-20	50-54	70-80
1 : 2	10-11	18-20	50-56	72-80
1 : 1	12-14	20-24	55-65	80-90

C U R R I C U L U M V I T A E

von Robert Philip Stidwill, geboren am 16. Mai 1949
in Winterthur (ZH), Bürger von Gächlingen im Kanton Schaffhausen
(Schweiz).

Vorbildung : Volksschulen in Zürich und Kloten

 Sekundarschule in Kloten

1965 Eintritt in die Oberrealschule Zürich

1969 Maturitätsprüfung

1969-1975 Biologiestudium an der Universität Zürich
mit Zoologie im Hauptfach, Botanik, Mathematik,
Chemie, Anatomie und Anthropologie im Nebenfach

 Diplomprüfung im April 1975

Sept.1975 - Aug. 1976 Aufenthalt auf Kreta im
Auftrage der Kommission für Ozeanographie und
Limnologie der Schweiz. Naturforschenden
Gesellschaft

1977-1981 Assistent am Zoologischen Institut der
Universität Zürich

An der Universität besuchte ich bei den folgenden Dozenten
Vorlesungen und Praktika :

R.Bachofen, G.Bächli, T.Baumann, J.Biegert, M.Birnstiel, H.Bolli,
H.J.Bosshard, H.Burla, P.S.Chen, C.Claude, C.D.K.Cook, I.Deäk,
J.Dobai, A.Dübendorfer, C.H.Eugster, E.Hadorn, P.Hagemann,
H.Hediger, T.Honegger, P.Hoyningen-Huene, R.Hunsperger,
E.Jungen-Hauschteck, H.Jungen, F.Knüsel, St.Kubik, P.Lampsides,
J.Mendoza de-Heuer, G.Mindek, R.Nöthiger, H.Oswald, D.Rast,
W.Sauter, J.Schlittler, H.Schmid, V.Schmid, F.Schwegler, V.Sidler,
W.Stumm, P.Tardent, E.Thomas, B.Van der Waerden, H.Wanner,
R.Weher, A.Wyler, V.Ziswiler.

Die vorliegende Arbeit entstand unter der Leitung von
Prof. Dr. P. Tardent am Zoologischen Institut der Universität
Zürich.

